

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

SOLICITUD DE PATENTE - NACIONAL

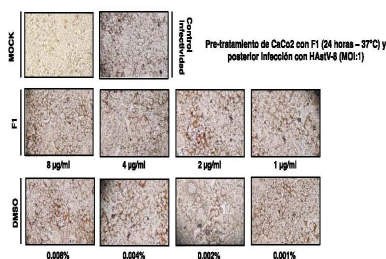


Figura 7

1	Tipo de solicitud	☒ Patente de invención		☐ Patente de modelo de utilidad
2	Título de la invención	3	CIP Clasificación Internacional de Patentes	
FRACCIÓN BIOACTIVA DE Achyrocline bogotensis (KUNTH) DC. (Compositae) CON ACTIVIDAD ANTIVIRAL		Nombre		Código
4	Datos del Solicitante / Titular			
Nombre:		PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA		Dirección Electrónica:
				clientes@cavelier.com
Dirección:		Carrera 7 No. 40-90, Bogotá, Colombia		Domicilio/País de constitución:
				COLOMBIA - BOGOTA D.C. - BOGOTA D.C.
Identificación:			Tipo Empresa:	

☐ CEDULA DE CIUDADANIA		☐ CEDULA DE EXTRANJERIA	☐ GRAN EMPRESA	☐ MEDIANA EMPRESA
☐ EMPRESA EXTRANJERA		☒ NIT	☐ OTRO	☐ PEQUEÑA EMPRESA
☐ PASAPORTE			☐ MICROEMPRESA	☐ PERSONAL
			☒ UNIVERSIDADES	☐ ENTIDADES DE ANIMO DE LUCRO
Número:		8600137201-		

5Solicitantes

Apellidos - Nombres o Razón Social	Tipo	Identificación
1. PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA	NI	8600137201

6Datos del Inventor

Nombre:	Juan Carlos ULLOA RUBIANO	Dirección Electrónica:	clientes@cavelier.com
Dirección:	Carrera 7 No. 40-90, Bogotá, Colombia	Domicilio/País de constitución:	COLOMBIA - BOGOTA D.C. - BOGOTA D.C.
Identificación: ☐ CEDULA DE CIUDADANIA ☐ EMPRESA EXTRANJERA ☐ PASAPORTE ☐ CEDULA DE EXTRANJERIA ☐ NIT ☒ No Aplica Número: -			

7Inventor(es)

Apellidos - Nombres	Domicilio
1. ULLOA RUBIANO Juan Carlos	COLOMBIA
2. TELLEZ ALFONSO ALBA NOHEMI	COLOMBIA
3. TELLEZ CORRAL MAYRA ALEXANDRA	COLOMBIA

8Datos Inventor(es)

	País de Residencia	Departamento/Estado	Ciudad	Dirección
1.	COLOMBIA		BOGOTA D.C.	Carrera 7 No. 40-90, Bogotá, Colombia
2.	COLOMBIA		BOGOTA D.C.	Carrera 7 No. 40-90, Bogotá, Colombia
3.	COLOMBIA		BOGOTA D.C.	Carrera 7 No. 40-90, Bogotá, Colombia
9	Datos del Representante Legal / Apoderado			
Nombre:		JOSE ANDRES RINCON USCATEGUI	Dirección Electrónica:	clientes@cavelier.com
Dirección:		CARRERA. 4 No. 72-35	Domicilio/País de constitución:	COLOMBIA - BOGOTA D.C. - BOGOTA D.C.
Identificación:				
☒ CEDULA DE CIUDADANIA		☐ CEDULA DE EXTRANJERIA		
☐ EMPRESA EXTRANJERA		☐ NIT		
☐ PASAPORTE				
Número:		79780910-		
Presentación de Poder				
Año de Radicación				
Número de Radicación				
10	Declaraciones de prioridad		☐ SI ☒ NO	
	(33) País de origen	Codigo del país	(31) No. Solicitud	(32) Fecha _
1				
2				
3				
11	Declaración sobre uso de recursos genéticos o biológicos			
Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los países miembros de la Comunidad Andina es país de origen.				

☒ SI ☐ NO

Nota: En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o numero de registro, expedido por la Autoridad competente.

12 Declaración sobre uso de conocimientos tradicionales

Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicionales de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina.

☐ SI ☒ NO

Nota: En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado o numero de registro.

13

Para publicar a partir de la fecha de publicación o de la prioridad invocada

Si es Patente de Invención

☐ 6 Meses ☐ 12 Meses ☐
18 Meses
☒ Otro Cual: 0 Meses

Si es Patente de Modelo de Utilidad

☐ 6 Meses ☐ 12 Meses
☐ Otro Cual:

14

Reivindicaciones

Número reivindicaciones:

19

Pago Reivindicaciones:

No

15 Reducción de tasas.

Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.

☐ SI ☒ NO

Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.

☐ Micro, pequeñas y medianas empresas
☒ Universidades públicas o privadas
☐ Entidades sin ánimo de lucro

Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos

16

Documentos Anexos

- ☒ Reivindicaciones
- ☒ Descripción
- ☒ Dibujos y/o Figuras
- ☒ Resumen
- ☐ Certificado Deposito Materia Biologica
- ☐ Uso de Conocimiento tradicional
- ☐ Listado de secuencias
- ☒ Artes finales 12 x 12 cm
- ☐ Certificado con descuento
- ☒ Poderes, si fuere el caso
- ☒ Documento que legalmente pruebe la Cesión del inventor al solicitante o a su causante
- ☒ Otros anexos



**PROSPERIDAD
PARA TODOS**

**CONTRATO DE ACCESO A RECURSOS GENÉTICOS PARA
INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA SIN INTERES COMERCIAL No. 84
MINISTERIO DE AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE Y
JUAN CARLOS ULLOA RUBIANO**

El presente contrato de acceso a recursos genéticos para investigación científica sin interés comercial se suscribe, de una parte por **MARÍA CLAUDIA GARCÍA DÁVILA**, identificada con la cédula de ciudadanía No. 39.790.569 expedida en Bogotá, quien actúa en su condición de Director Técnico, Código 0100, Grado 22, de la Dirección de Bosques, Biodiversidad y Servicios Ecosistémicos del Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, según Resolución No. 543 del 31 de mayo de 2013, debidamente facultado para suscribir el presente contrato, de conformidad con lo establecido en el numeral 14 del Artículo 16 del Decreto Ley 3570 de 2011; y por otra parte, **JUAN CARLOS ULLOA RUBIANO**, identificado con cédula de ciudadanía No. 79.794.716 de Bogotá y quien para los efectos del presente contrato se denominará **EL INVESTIGADOR** y **CONSIDERANDO** Que: **1)** El artículo 81 de la Constitución Política, en el inciso segundo, determina que el Estado es el único ente facultado para regular la utilización, el ingreso o la salida de los recursos genéticos del país; por lo tanto, aspectos tales como la autorización de acceso a los recursos genéticos y el contrato mismo, no podrán ser transados por particulares. **2)** Que el 2 de julio de 1996, la Comunidad Andina por medio de la Comisión del Acuerdo de Cartagena, aprobó la Decisión 391 – Régimen Común de Acceso a Recursos Genéticos, estableciendo como consideraciones la soberanía de los países en el uso y aprovechamiento de sus recursos, principio que ha sido enunciado por el Convenio sobre Diversidad Biológica, suscrito en Río de Janeiro en junio de 1992. **3)** Que la Decisión Andina 391 de 1996, tiene por objeto regular el acceso a los recursos genéticos y sus productos derivados, pertenecientes a los Países Miembros a fin de prever condiciones para una participación justa y equitativa en los beneficios derivados del acceso, sentar las bases para el reconocimiento y valoración de los recursos genéticos y sus productos derivados y de sus componentes intangibles asociados, especialmente cuando se trate de comunidades indígenas, afroamericanas o locales; promover la conservación de la diversidad biológica y la utilización sostenible de los recursos biológicos que contienen los recursos genéticos; promover la consolidación y desarrollo de las capacidades científicas, tecnológicas y técnicas a nivel local, nacional y subregional y fortalecer la capacidad negociadora de los Países Miembros. **4)** Que de conformidad con el artículo 5º numeral 20 de la Ley 99 de 1993, corresponde al Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, coordinar, promover y orientar las acciones de investigación sobre el medio ambiente y los recursos naturales renovables, establecer el Sistema de Información Ambiental y organizar el inventario de biodiversidad y de los recursos genéticos nacionales. **5)** Que el artículo 5º numeral 21 de la norma anteriormente citada, establece que es función del Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible regular conforme a la ley, la obtención, uso, manejo, investigación, importación y



**CONTRATO DE ACCESO A RECURSOS GENÉTICOS PARA
INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA SIN INTERES COMERCIAL No. 84
MINISTERIO DE AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE Y
JUAN CARLOS ULLOA RUBIANO**

exportación, así como la distribución y el comercio de especies y estirpes genéticas de fauna y flora silvestre. **6)** Que a su vez, el artículo 5º numeral 38 ibídem señala que es responsabilidad de este **MINISTERIO**, vigilar que el estudio, exploración e investigación de nacionales y extranjeros con respecto a nuestros recursos naturales renovables respete la soberanía nacional y los derechos de la Nación Colombiana sobre sus recursos genéticos. **7)** Que el Gobierno Nacional, mediante el Decreto 730 del 14 de marzo de 1997, determinó que el Ministerio del Medio Ambiente, hoy Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, es la Autoridad Nacional competente para actuar en los términos y para los efectos contenidos en la Decisión Andina 391 de 1996. **8)** Que mediante Resolución 620 del 7 de julio de 1997, **EL MINISTERIO**, estableció el procedimiento interno para tramitar las solicitudes de acceso a los recursos genéticos y sus productos derivados. **9)** Que la Sala de Consulta y Servicio Civil del Consejo de Estado, mediante concepto del 7 de agosto de 1997, radicación 977, Consejero Ponente: Cesar Hoyos Salazar, señaló que los recursos genéticos son bienes de dominio público y pertenecen a la Nación y forman parte de los recursos o riquezas naturales de la misma. **10)** Que en consecuencia, *"El régimen jurídico de propiedad aplicable a los recursos genéticos, de utilidad real o potencial, es el establecido para los bienes de dominio público, en forma general en la Constitución Política, y de manera particular, en la Decisión 391 de la Comisión del Acuerdo de Cartagena, en el decreto ley 2811 de 1974, la ley 165 de 1994 y en las demás disposiciones legales que en el futuro se expidan sobre la materia"*. **11)** Que la Decisión Andina 486 del año 2000, establece que los Países Miembros deberán asegurar que la protección conferida a los elementos de la propiedad industrial se concederá salvaguardando y respetando su patrimonio biológico y genético, así como los conocimientos tradicionales de sus comunidades indígenas, afroamericanas o locales. En tal virtud, la concesión de patentes que versen sobre invenciones desarrolladas a partir de material obtenido de dicho patrimonio o dichos conocimientos estará supeditada a que ese material haya sido adquirido de conformidad con el ordenamiento jurídico internacional, comunitario y nacional y dichas disposiciones se aplicarán e interpretarán de manera que no contravengan a las establecidas por la Decisión Andina 391 de 1996. **12)** Que la Comisión del Acuerdo de Cartagena, mediante la Decisión 351 de 1993 aprobó el Régimen Común sobre Derechos de Autor y Derechos Conexos, la cual tiene por finalidad reconocer una adecuada y efectiva protección a los autores y demás titulares de derechos, sobre las obras del ingenio, en el campo literario, artístico o científico, cualquiera que sea el género o forma de expresión y sin importar el mérito literario o artístico ni su destino. **13)** Que mediante la Ley 23 de 1982, aclarada y modificada por la Ley 44 de 1993, se reglamentó lo relativo a los derechos de autor, señalando que



**CONTRATO DE ACCESO A RECURSOS GENÉTICOS PARA
INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA SIN INTERES COMERCIAL No. 84
MINISTERIO DE AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE Y
JUAN CARLOS ULLOA RUBIANO**

estos recaen sobre las obras científicas, literarias y artísticas, las cuales comprenden todas las creaciones del espíritu en el campo científico, literario y artístico, cualquiera que sea el modo o forma de expresión y cualquiera que sea su destinación. **14)** Que el Decreto 309 de 2000 reglamenta la investigación científica sobre diversidad biológica y contempla, entre otras cosas, que los proyectos que requieran la obtención y utilización de los recursos genéticos, sus productos derivados o sus componentes intangibles, quedarán sujetos a lo previsto en el mismo y demás normas legales vigentes que regulen el acceso a recursos genéticos. **15)** Que mediante el Decreto Ley 3570 del 27 de septiembre de 2011, se modificaron los objetivos y la estructura del Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible **16)** Que el numeral 14 de artículo 16 del citado Decreto Ley asignó a la Dirección de Bosques, Biodiversidad y Servicios Ecosistémicos, la función de adelantar el trámite relacionado con las solicitudes de acceso a recursos genéticos, aceptar o negar la solicitud, resolver el recurso de reposición que se interponga y suscribir los contratos correspondientes. **17)** Que **EL MINISTERIO** en cumplimiento de lo establecido en el artículo 30 de la Decisión Andina 391 de 1996, adelantará el proceso de negociación el cual está consignado en Acta del día 12 de noviembre de 2013. **18)** Que corresponde al **MINISTERIO**, en nombre de la Nación, otorgar el acceso a los recursos genéticos, de acuerdo con la legislación nacional vigente y al presente contrato de acceso a recursos genéticos. **19)** Que en tal sentido mediante Auto No. 022 del 18 de junio de 2013, por el cual se admitió la solicitud de Acceso a Recursos Genéticos para el proyecto denominado "Búsqueda de sustancias inhibidoras de la infección in vitro por rotavirus y astrovirus a partir de una especie vegetal nativa colombiana, perteneciente a la familia Asteraceae (Compositae)", y se dio inicio al trámite administrativo previsto en la Decisión Andina 391 de 1996. **20)** Que **EL INVESTIGADOR** aportó comunicación suscrita por el representante de la Pontificia Universidad Javeriana, a través de la cual se identifica como la Institución Nacional de Apoyo. **21)** Que la Autoridad Nacional de Licencias Ambientales – ANLA, otorgó el Permiso de Estudio con Fines de Investigación Científica en Diversidad Biológica No. 1439 del 20 de mayo de 2013 aclarado mediante Resolución No. 0708 del 16 de julio de 2013, a través del cual se autorizan las colectas de *Achyrocline Bogotensis* en jurisdicción de los municipios de Chía y Sáchica, para el desarrollo del proyecto denominado "Búsqueda de sustancias inhibidoras de la infección in vitro por rotavirus y astrovirus a partir de una especie vegetal nativa colombiana, perteneciente a la familia Asteraceae (Compositae)". **22)** Que mediante Resolución No. 1290 del 1º de octubre 2013, se aceptó la solicitud de acceso a recursos genéticos, presentada por **EL INVESTIGADOR**, para el desarrollo del proyecto: "Búsqueda de sustancias inhibidoras de la infección in vitro por rotavirus y



**CONTRATO DE ACCESO A RECURSOS GENÉTICOS PARA
INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA SIN INTERES COMERCIAL No. 84
MINISTERIO DE AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE Y
JUAN CARLOS ULLOA RUBIANO**

astrovirus a partir de una especie vegetal nativa colombiana, perteneciente a la familia *Asteraceae (Compositae)*", y se recomienda el paso a la etapa de negociación y a la eventual firma del contrato de acceso a recursos genéticos sin interés comercial. **23)** Que la mencionada investigación no pretende fines comerciales en el uso del recurso genético que se especifica en el presente contrato, en las actividades de investigación, ni en los resultados previstos. Con fundamento en las anteriores consideraciones y en ejercicio del principio de autonomía de la voluntad, se acuerda suscribir el presente contrato, contenido en las siguientes cláusulas: **CLAUSULA PRIMERA.- OBJETO DEL CONTRATO:** Mediante el presente contrato, **EL MINISTERIO** otorga **AL INVESTIGADOR** el acceso a los recursos genéticos para investigación científica sin interés comercial, conforme se identifica y en las condiciones que se establecen: **1).** **Nombre del Proyecto de Investigación.** "Búsqueda de sustancias inhibidoras de la infección in vitro por rotavirus y astrovirus a partir de una especie vegetal nativa colombiana, perteneciente a la familia *Asteraceae (Compositae)*", **2.) Objeto del Proyecto de Investigación.** Con las actividades de acceso que realizará **EL INVESTIGADOR**, pretende buscar sustancias inhibidoras de la infección in vitro por rotavirus y/o astrovirus a partir de extractos y fracciones vegetales obtenidos de una especie nativa colombiana, perteneciente a la familia *Asteracea (Compositae)*. **CLAUSULA SEGUNDA.- ALCANCE DEL OBJETO:** Se realizara una colecta del material vegetal y a partir de las hojas se obtendrán por medios fitoquímicos (extracción liquido/liquido) extractos y fracciones con los cuales se realizaran ensayos biológicos para valorar si tienen una actividad antiviral in vitro contra rotavirus y astrovirus. El presente contrato de acceso a recursos genéticos y producto derivado, se suscribe con fines de investigación científica y por lo tanto restringe cualquier tipo de lucro en esta etapa. **CLAUSULA TERCERA.- OBLIGACIONES DEL INVESTIGADOR .-** Con el proyecto, **EL INVESTIGADOR** se compromete: **a)** Circunscribir el acceso a los recursos genéticos, a las cantidades y a los usos, conforme con lo autorizado en este contrato y de acuerdo con el proyecto presentado al **MINISTERIO** con la solicitud de acceso, el cual forma parte integral de los documentos del presente contrato, los cuales obran en el expediente RGE0141; **b)** Informar al **MINISTERIO**, inmediatamente se identifiquen riesgos o amenazas, asociados a la salud humana, las poblaciones de animales y vegetales, los ecosistemas o el medio ambiente en general, en desarrollo del presente proyecto; **c)** Comprometerse para que en toda publicación y/o presentación pública de la investigación, en las actividades y/o los resultados que se obtengan con base en los recursos genéticos cuyo acceso se otorga, **EL INVESTIGADOR** mencione: **1)** El presente contrato suscrito con **EL MINISTERIO**, indicando su categoría de "Contrato de Acceso a Recursos Genéticos para



**PROSPERIDAD
PARA TODOS**

**CONTRATO DE ACCESO A RECURSOS GENÉTICOS PARA
INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA SIN INTERES COMERCIAL No. 84
MINISTERIO DE AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE Y
JUAN CARLOS ULLOA RUBIANO**

Investigación Científica sin Interés Comercial” y 2) El recurso sobre el cual se investiga; **d)** Presentar al **MINISTERIO** y demás interesados que convoque la entidad, los resultados de la investigación; **e)** Garantizar que el recurso biológico que contiene el recurso genético al cual accede, será utilizado única y exclusivamente para realizar la investigación científica sin interés comercial; **f)** Entregar al **MINISTERIO** una (1) copia en medio impreso y magnético de los informes de la investigación y una (1) copia impresa de cada una de las publicaciones generadas en desarrollo de la investigación autorizada por el presente contrato; **g)** No transferir ni intercambiar con terceros a ningún título ni por dinero ni especie, todo o parte de los recursos genéticos autorizados, sin que previamente se autorice por **EL MINISTERIO**; **h)** No utilizar los resultados obtenidos en el proyecto autorizado en el presente contrato, para fines comerciales o de aplicación industrial para generación de beneficios económicos, sin la autorización respectiva; **i)** Obtener ante **EL MINISTERIO** en caso de que lo requiera, los respectivos permisos para la exportación e importación del material biológico o genético; **j)** Utilizar los resultados obtenidos en la investigación únicamente con finalidades científicas y académicas; **k)** Compartir con **EL MINISTERIO**, la información sobre datos genéticos identificados y origen probable de las muestras, para efectos de su utilización en procesos de investigación, que se adelante en el territorio nacional o en otros países y que comprometa material biológico de origen colombiano; **l)** Informar oportunamente al **MINISTERIO** y a la Institución Nacional de Apoyo, sobre los avances de la investigación, la remisión de investigaciones y publicaciones derivadas de las actividades del proyecto y la liberación de la información en la base de datos del sistema de información sobre biodiversidad -SiB. **m)** Incluir un reconocimiento al origen colombiano de los recursos genéticos, las entidades proveedoras de las muestras biológicas y el contrato de acceso suscrito con el Estado, en las publicaciones científicas que se generen, en desarrollo del proyecto: “Búsqueda de sustancias inhibidoras de la infección in vitro por rotavirus y astrovirus a partir de una especie vegetal nativa colombiana, perteneciente a la familia *Asteraceae (Compositae)*”; **n)** En los eventos en que se llegue a compartir información de los datos genéticos obtenidos del proyecto “Búsqueda de sustancias inhibidoras de la infección in vitro por rotavirus y astrovirus a partir de una especie vegetal nativa colombiana, perteneciente a la familia *Asteraceae (Compositae)*”, en el marco del presente contrato; con bases de datos internacionales de acceso libre, en la medida que sea factible se establecerán los créditos respectivos frente al origen colombiano de las muestras, el respectivo proveedor del recurso y el marco legal de obtención, señalando las restricciones a que haya lugar o condiciones para su uso en el contexto internacional por equipos de investigación de otros países. **o)** **EL INVESTIGADOR**, deberá depositar los



**CONTRATO DE ACCESO A RECURSOS GENÉTICOS PARA
INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA SIN INTERES COMERCIAL No. 84
MINISTERIO DE AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE Y
JUAN CARLOS ULLOA RUBIANO**

especímenes objeto de estudio, en alguna de las colecciones biológicas registradas ante el Instituto de Investigación de Recursos Biológicos "Alexander von Humboldt" y adjuntará una constancia de dicha entrega con cada informe presentado ante este Ministerio. **CLAUSULA CUARTA.- OBLIGACIONES DEL MINISTERIO:** Para la celebración y ejecución del presente contrato, **EL MINISTERIO**, se compromete a) Otorgar **AL INVESTIGADOR**, el acceso a los recursos genéticos con fines de investigación científica sin interés comercial de conformidad con lo establecido en la Resolución No. 1290 del 01 de octubre de 2013, por la cual se aceptó la solicitud de acceso a los recursos genéticos. b) Evaluar los informes presentados por **EL INVESTIGADOR**, de conformidad con los lineamientos señalados en la Decisión Andina 391 de 1996 y demás normas concordantes. c) Tomar las medidas que considere necesarias frente **AL INVESTIGADOR** o terceros, para recuperar el material del recurso biológico y/o genético cuyo acceso se ha otorgado, en el evento que a la terminación del presente contrato, este material no haya sido depositado en una colección debidamente registrada o en su defecto al Instituto de Investigaciones Alexander von Humboldt. **CLAUSULA QUINTA.- INSTITUCIÓN NACIONAL DE APOYO.** En la ejecución del presente contrato, la Pontificia Universidad Javeriana, se compromete en su calidad de Institución Nacional de Apoyo, acompañar y participar con **EL INVESTIGADOR** en las actividades de acceso a los recursos genéticos y productos derivados y colaborar con el **MINISTERIO**, en las actividades de seguimiento y control del acceso a los recursos genéticos. **CLAUSULA SEXTA.- PLAZO DE EJECUCIÓN DEL CONTRATO:** El término de ejecución del presente contrato será de dos (2) años contados a partir de la ejecutoria del acto administrativo por medio del cual se perfecciona el presente contrato. **CLAUSULA SEPTIMA.- PRORROGA:** En el evento en que **EL INVESTIGADOR** requiera la prórroga del presente contrato, dentro de los treinta (30) días antes de la fecha prevista de terminación del mismo deberá presentar solicitud escrita al **MINISTERIO**, informando sobre el estado de la investigación, las causas y el período solicitado de prórroga. Dentro de los treinta (30) días siguientes al recibo de la solicitud **EL MINISTERIO** informará **AL INVESTIGADOR** sobre la aceptación o denegación de la prórroga y los términos en que se suscribirá la misma. La prórroga se otorgará por una sola vez y no podrá ser mayor al término de un (1) año. **CLAUSULA OCTAVA.- CESIÓN.-** El presente contrato no podrá ser cedido en todo ni en parte, a persona natural o jurídica, nacional o extranjera, sin que medie autorización previa por parte del **MINISTERIO**. **CLAUSULA NOVENA.- PROPIEDAD INTELECTUAL: DERECHOS DE AUTOR.** Los derechos de autor sobre las obras científicas resultantes de la investigación objeto de este contrato se ceñirán a las disposiciones contenidas en la Ley 23 de 1982, aclarada y modificada por la Ley 44 de



**PROSPERIDAD
PARA TODOS**

**CONTRATO DE ACCESO A RECURSOS GENÉTICOS PARA
INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA SIN INTERÉS COMERCIAL No. 84
MINISTERIO DE AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE Y
JUAN CARLOS ULLOA RUBIANO**

1993, Ley 1450 de 2011, Decisión 351 de 1993 y demás normas concordantes. **PROPIEDAD INDUSTRIAL.** Los recursos genéticos de que trata el presente contrato no serán objeto de ningún derecho de propiedad industrial, ni serán susceptibles de depósito con fines de patentamiento. Los derechos de propiedad intelectual sobre procedimientos obtenidos a partir de la investigación de que trata el presente contrato, se ceñirán a las disposiciones de la Decisión Andina 486 de 2000, sobre Régimen Común de Propiedad Industrial. **CLAUSULA DECIMA.- PUBLICACIONES:** En toda publicación y/o presentación pública de la investigación, las actividades y/o los resultados que se obtengan con base en los recursos genéticos cuyo acceso se otorga en el presente contrato, comprometen **AL INVESTIGADOR**, a hacer referencia: **a)** el presente contrato suscrito con **EL MINISTERIO**, indicando su categoría de "*Contrato de Acceso a Recursos Genéticos para Investigación Científica sin Interés Comercial*"; y **b)** el recurso genético sobre el cual se investiga. **CLAUSULA DÉCIMA PRIMERA.- DISTRIBUCION DE BENEFICIOS DERIVADOS DEL ACCESO: EL INVESTIGADOR**, retribuirá a la Nación el otorgamiento del acceso a los recursos genéticos, permitiendo el acceso y uso de la información sobre los productos o procedimientos protegidos por derechos de propiedad intelectual que resulten de las actividades contempladas en el presente contrato; dando estricto cumplimiento a las obligaciones establecidas en la Cláusula Tercera del presente contrato. **CLAUSULA DÉCIMA SEGUNDA.- INFORMES: 1)** Deberá entregar en medio impreso y/o magnético un (1) informe de avance, finalizado el primer (1) año contado desde el perfeccionamiento del presente contrato, y un (1) informe final, en un plazo no superior a 30 días hábiles, desde el vencimiento del plazo del presente contrato, según los lineamientos señalados en la Decisión Andina 391 de 1996. **2)** Dichos informes deberán elaborarse de acuerdo con las actividades de acceso autorizadas y las obligaciones establecidas en el presente contrato. **3)** Copia de los citados informes deberá ser remitida a la Pontificia Universidad Javeriana en su calidad de Institución Nacional de Apoyo. **4)** **EL MINISTERIO** evaluará dichos informes, emitirá concepto y lo comunicará por escrito **AL INVESTIGADOR**, dentro de los treinta (30) días siguientes a su recepción. En dicha comunicación, **EL MINISTERIO** incluirá los requerimientos o comentarios para complementación, corrección o ajuste de los respectivos informes, conforme a lo dispuesto en el presente contrato. **5)** Dentro de los treinta (30) días siguientes a la fecha de envío de la comunicación de requerimientos y ajustes, **EL INVESTIGADOR**, entregará al **MINISTERIO** respuesta escrita con las complementaciones, correcciones o ajustes al respectivo informe. **6)** **EL MINISTERIO** evaluará dicha información, emitirá concepto y lo comunicará por escrito **AL INVESTIGADOR**. **CLAUSULA DÉCIMA TERCERA.- SUPERVISIÓN DEL CONTRATO: EL MINISTERIO** ejercerá la supervisión



**CONTRATO DE ACCESO A RECURSOS GENÉTICOS PARA
INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA SIN INTERES COMERCIAL No. 84
MINISTERIO DE AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE Y
JUAN CARLOS ULLOA RUBIANO**

y control, sobre la ejecución del presente contrato a través de la Dirección de Bosques, Biodiversidad y Servicios Ecosistémicos o de las dependencias que hagan sus veces, o por los funcionarios que para estos efectos se designen o señalen. En ejercicio de esta supervisión se desarrollarán entre otras, las siguientes funciones: **a)** Velar por el cumplimiento de cada una de las obligaciones que se establecen en el presente contrato; **b)** Verificar el cumplimiento de la normatividad aplicable al presente contrato; **c)** Evaluar los informes del **INVESTIGADOR** y emitir concepto; **d)** Actuar como interlocutor y atender las comunicaciones del **INVESTIGADOR** y a todo interesado en el presente contrato; **e)** Mantener la información y documentación relacionada con el objeto del presente contrato en un archivo continuo de los documentos bajo las premisas de seguridad y confidencialidad que para estos documentos se requieren.

CLAUSULA DÉCIMA CUARTA.- EXONERACION DE RESPONSABILIDADES DEL MINISTERIO EN RELACION CON EL ACCESO. EL INVESTIGADOR exonera de toda responsabilidad **AL MINISTERIO** por los daños y perjuicios que eventualmente se ocasionen por la obtención de los recursos genéticos o productos derivados, la realización de cualquier otra actividad comprendida o no en la investigación, la manipulación y transporte de los recursos genéticos y/o productos derivados, y el manejo de los resultados de la investigación. **CLAUSULA DÉCIMA QUINTA.- FUERZA MAYOR:** En cualquier momento durante la ejecución del presente contrato, si surgieren hechos imprevistos, no ocasionados por acción u omisión de las partes y, en todo caso, fuera de su control y que imposibiliten la ejecución del presente contrato, la parte afectada por los hechos imprevistos notificará por escrito a la otra y dentro de los cinco (5) días hábiles siguientes a la fecha de notificación, las partes podrán considerar: **a)** la suspensión del contrato hasta por seis (6) meses o **b)** la terminación inmediata del contrato por fuerza mayor o caso fortuito. **PARÁGRAFO:** Si al cabo del período acordado de suspensión no cesan los hechos que imposibilitan la ejecución del contrato, éste se declarará terminado por fuerza mayor o caso fortuito. **CLAUSULA DÉCIMA SEXTA.- TERMINACION DEL CONTRATO:** El presente contrato se dará por terminado en los siguientes eventos: **a)** Finalización del término del presente contrato; **b)** Incumplimiento de **EL INVESTIGADOR**; **c)** Por fuerza mayor o caso fortuito. **d)** Por mutuo acuerdo entre las partes. **EL MINISTERIO**, emitirá concepto escrito acerca del informe definitivo de la investigación y lo comunicará **AL INVESTIGADOR** y a la Institución Nacional de Apoyo, indicando las condiciones en que se realizará la terminación del contrato.. **PARÁGRAFO PRIMERO:** En los eventos consagrados en los literales c) y d), las partes suscribirán un acta de terminación en la cual se consignará el avance de cumplimiento y los motivos que sustentan la terminación. **PARÁGRAFO SEGUNDO: EL MINISTERIO** podrá declarar la terminación del contrato en cualquiera de



**CONTRATO DE ACCESO A RECURSOS GENÉTICOS PARA
INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA SIN INTERES COMERCIAL No. 84
MINISTERIO DE AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE Y
JUAN CARLOS ULLOA RUBIANO**

los siguientes casos: 1) Por contravención de las condiciones estipuladas en el objeto del presente contrato; 2) Cuando se cambie el objeto de la investigación y con esto se ocasionen daños y perjuicios que puedan afectar la salud humana, la biodiversidad, los recursos genéticos, los ecosistemas y/o los bienes de terceros en el desarrollo de las obligaciones, por acciones **DEL INVESTIGADOR** fuera del marco de la investigación 3) Cuando se compruebe falsedad o dolo en cualquiera de los documentos del presente contrato. 4) Por muerte o incapacidad física permanente **DEL INVESTIGADOR**, si es persona natural, o por disolución si se trata de persona jurídica. **EL MINISTERIO** notificará **AL INVESTIGADOR** el acto administrativo correspondiente, en el cual incluirá las condiciones de terminación del contrato. **PARÁGRAFO TERCERO:** Una vez terminado el presente contrato, **EL INVESTIGADOR**, no utilizará los recursos genéticos con ningún propósito, ni pretenderá derechos de propiedad intelectual sobre los mismos, en el país ni en el exterior. En el evento en que se requiera utilizar los recursos genéticos objeto del presente contrato que hayan sido depositados en bancos o colecciones legalmente registradas se deberá solicitar el respectivo contrato ante la Autoridad Nacional Competente **PARÁGRAFO CUARTO:** Si en cualquier momento después de la terminación del contrato, **EL MINISTERIO** encuentra que ha habido falsedad o dolo en el contenido de los informes o que se está utilizando ilegalmente el recurso genético, podrá solicitar a las autoridades competentes que adelanten las acciones civiles, penales y administrativas a que haya lugar conforme a la responsabilidad **DEL INVESTIGADOR** y/o de terceros. **PARÁGRAFO QUINTO:** En caso de presentarse infracción a las normas sobre protección ambiental y de los recursos naturales renovables, y una vez surtido el correspondiente proceso se dará aplicación a las sanciones establecidas en la Ley 1333 del 21 de julio de 2009, a que haya lugar. **CLAUSULA DÉCIMA SEPTIMA.- LIQUIDACIÓN:** Una vez terminado el Contrato por cualquier causa se procederá a su liquidación, dentro de los cuatro (4) meses siguientes al vencimiento del plazo de ejecución, o a la fecha de ejecutoria del acto administrativo que declare la terminación del contrato. Para el efecto, **EL INVESTIGADOR** y **EL MINISTERIO**, suscribirán la respectiva acta. Si **EL INVESTIGADOR** no se presenta a la liquidación o las partes no llegan a acuerdo sobre el contenido de la misma, será practicada directa y unilateralmente por el **MINISTERIO**, conforme con lo dispuesto en el Artículo 60 de la Ley 80 de 1993, modificado por los Artículos 11 de la Ley 1150 de 2007 y por el Artículo 217 del Decreto Ley 019 de 2012. **CLÁUSULA DÉCIMA OCTAVA.- SOLUCIÓN DE CONTROVESIAS CONTRACTUALES:** En el evento en que se presenten diferencias entre las partes, con ocasión de la celebración, ejecución o terminación del presente contrato, las partes acudirán a la conciliación, la amigable composición o la transacción, de conformidad con lo establecido en la Legislación



**CONTRATO DE ACCESO A RECURSOS GENÉTICOS PARA
INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA SIN INTERÉS COMERCIAL No. 84
MINISTERIO DE AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE Y
JUAN CARLOS ULLOA RUBIANO**

colombiana, **CLÁUSULA DÉCIMA NOVENA: INHABILIDADES E INCOMPATIBILIDADES:** EL INVESTIGADOR al suscribir el presente contrato manifiesta bajo la gravedad del juramento, que no se halla incurso en causal alguna de inhabilidad o incompatibilidad a que se refieren los artículos 8º adicionado por el literal j del artículo 18 de la Ley 1150 de 2007, 9º de la Ley 80 de 1993 y en general las previstas en la Constitución y en la Ley. **CLÁUSULA VIGÉSIMA.- NOTIFICACIONES:** Los actos administrativos que se produzcan en relación con el presente contrato serán notificados personalmente **AL INVESTIGADOR** en la Cra 7 No. 43-82, departamento de microbiología, piso sexto, edificio Carlos Ortiz de la ciudad de Bogotá o en la dirección electrónica julooa@javeriana.edu.co. **CLAUSULA VIGÉSIMA PRIMERA.- DIRECCIONES:** Las comunicaciones que se emitan en relación con el presente contrato se realizarán a las siguientes direcciones: a) **EL MINISTERIO:** en la Calle 37 N° 8-40 de la ciudad de Bogotá, Dirección de Bosques, Biodiversidad y Servicios Ecosistémicos. b) **AL INVESTIGADOR,** en la Cra 7 No. 43-82, departamento de microbiología, piso sexto, edificio Carlos Ortiz de la ciudad de Bogotá o en la dirección electrónica julooa@javeriana.edu.co. c) Institución Nacional de Apoyo: Pontificia Universidad Javeriana, en la Cra 7 No. 40-76, piso sexto y a la dirección electrónica direccion.juridica@javeriana.edu.co de esta ciudad. **CLAUSULA VIGÉSIMA SEGUNDA.- PERFECCIONAMIENTO, LEGALIZACIÓN Y EJECUCIÓN DEL CONTRATO.** El presente contrato se entiende perfeccionado con la suscripción por las partes y la posterior emisión y ejecutoria de la resolución de perfeccionamiento a) Para legalizar el presente contrato, **EL MINISTERIO** publicará un extracto del mismo junto con la Resolución que otorgue el acceso a los recursos genéticos. **CLAUSULA VIGESIMA TERCERA.- LEGISLACION APLICABLE:** El presente contrato de acceso a recursos genéticos para investigación científica sin interés comercial se rige por la Decisión 391 del 2 de julio de 1996 de la Comisión del Acuerdo de Cartagena, sobre el "Régimen Común sobre Acceso a los Recursos Genéticos" y por las leyes, reglamentaciones y normas vigentes en el territorio nacional de Colombia, en particular, pero no limitadas a aquellas vigentes para investigación científica en diversidad biológica, acceso a recursos genéticos, permisos de importación y exportación de especímenes de la diversidad biológica, propiedad intelectual y bioseguridad. **CLAUSULA VIGÉSIMA CUARTA.- DOCUMENTOS DEL CONTRATO:** Forman parte integral del contrato los siguientes documentos: solicitud de Contrato de Acceso a Recurso Genético, permiso de investigación, Dictamen Técnico Legal, la Resolución por la cual se aprobó la solicitud de Contrato de Acceso a Recurso Genético, los contratos accesorios, los anexos, los informes de supervisión y en general los demás documentos relacionados con la celebración, ejecución y terminación del presente



**PROSPERIDAD
PARA TODOS**

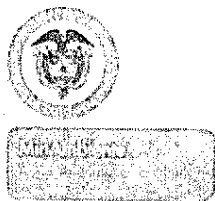
**CONTRATO DE ACCESO A RECURSOS GENÉTICOS PARA
INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA SIN INTERÉS COMERCIAL No. 84
MINISTERIO DE AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE Y
JUAN CARLOS ULLOA RUBIANO**

contrato. **CLÁUSULA VIGÉSIMA QUINTA.- IDIOMA DEL CONTRATO:** El idioma del presente contrato, incluso los documentos anexos al mismo, los informes y las comunicaciones entre las partes, será el castellano. El presente contrato de acceso a recurso genético para investigación científica sin interés comercial se suscribe en la ciudad de Bogotá, a los 12 días del mes de noviembre.

MARÍA CLAUDIA GARCÍA DÁVILA
Directora Bosques, Biodiversidad y Servicios
Ecosistémicos

JUAN CARLOS ULLOA RUBIANO
Investigador principal

Proyectó: Luz Helena Escobar M - Abogada Contratista MADS
Revisado por: Beatriz Adriana Acevedo P. - Profesional Especializado *ell*
Expediente RGE0141



**PROSPERIDAD
PARA TODOS**

**ACTA DE REUNION DE NEGOCIACIÓN DEL CONTRATO DE
ACCESO A RECURSOS GENÉTICOS PARA INVESTIGACIÓN
CIENTÍFICA SIN INTERES COMERCIAL ENTRE EL MINISTERIO
DE AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE Y JUAN CARLOS
ULLOA RUBIANO**

PROYECTO: “Búsqueda de sustancias inhibidoras de la infección in vitro por rotavirus y astrovirus a partir de una especie vegetal nativa colombiana, perteneciente a la familia Asteraceae (Compositae)”

Expediente: RGE0141

En la ciudad de Bogotá D.C. a los doce (12) días del mes de noviembre de 2013, siendo las 11:00 a.m. en la sala de reuniones de la Dirección de Bosques, Biodiversidad y Servicios Ecosistémicos del Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, en cumplimiento de las disposiciones contenidas en la Decisión Andina 391 de 1996, y la Resolución 620 del 7 de julio de 1997, se dio inicio a la reunión de etapa de negociación del contrato de Acceso a Recursos Genéticos para Investigación Científica sin interés comercial, relacionado con el proyecto denominado: “Búsqueda de sustancias inhibidoras de la infección in vitro por rotavirus y astrovirus a partir de una especie vegetal nativa colombiana, perteneciente a la familia Asteraceae (Compositae)”, en virtud de convocatoria previa se hicieron presentes: **MARÍA CLAUDIA GARCÍA DÁVILA**, en calidad de Directora, Beatriz Adriana Acevedo P. profesional especializada de la Dirección de Bosques, Biodiversidad y Servicios Ecosistémicos, **JUAN CARLOS ULLOA RUBIANO** investigador, Rafael Cortes Lasso en representación de la Institución Nacional de Apoyo, la Pontificia Universidad Javeriana y Luz Helena Escobar Martínez contratista de la Dirección de Bosques, Biodiversidad y Servicios Ecosistémicos.

ORDEN DEL DÍA

1. Instalación de la reunión de negociación.
2. Lectura de la minuta de contrato de acceso a Recursos genéticos,
3. Intervención de los participantes.
4. Cierre de la etapa de negociación del contrato.

Beatriz Adriana Acevedo Pérez del grupo de Recursos Genéticos de la Dirección de Bosques, Biodiversidad y Servicios Ecosistémicos, instaló la reunión e hizo la lectura de la minuta del contrato de acceso a recursos genéticos, en cuyo desarrollo se realizaron las siguientes observaciones para la modificación de la misma:

1. El investigador propone una modificación en la redacción de la Cláusula Décima Primera del contrato, teniendo en cuenta que los términos “condiciones preferenciales y concesionarias” se asimilan a un producto con fines comerciales que no corresponde al objeto del contrato a suscribir. Se acordó en consecuencia la siguiente redacción:
CLAUSULA DÉCIMA PRIMERA.- DISTRIBUCION DE BENEFICIOS DERIVADOS DEL ACCESO: EL INVESTIGADOR, retribuirá a la Nación el otorgamiento del acceso a los recursos genéticos, permitiendo el acceso y uso de la información sobre los productos o procedimientos protegidos por derechos de propiedad intelectual que resulten de las



**PROSPERIDAD
PARA TODOS**

**ACTA DE REUNION DE NEGOCIACIÓN DEL CONTRATO DE
ACCESO A RECURSOS GENÉTICOS PARA INVESTIGACIÓN
CIENTÍFICA SIN INTERES COMERCIAL ENTRE EL MINISTERIO
DE AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE Y JUAN CARLOS
ULLOA RUBIANO**

actividades contempladas en el presente contrato; dando estricto cumplimiento a las obligaciones establecidas en la Cláusula Tercera del presente contrato.

2. El investigador y el representante de la Institución Nacional de Apoyo aclararon las direcciones físicas para las comunicaciones que se derivan del contrato. Adicionalmente la Institución Nacional de Apoyo solicitó incluir la dirección electrónica de la dirección jurídica de la Universidad para efectos de comunicación.
3. Finalmente se efectúan las correcciones ortográficas y de forma al contrato.

En este estado, siendo las 12:00 m., se termina la reunión de negociación del contrato de acceso a recurso genético para el proyecto denominado: "Búsqueda de sustancias inhibidoras de la infección in vitro por rotavirus y astrovirus a partir de una especie vegetal nativa colombiana, perteneciente a la familia Asteraceae (Compositae)", los cambios concertados a la minuta del contrato se realizan en el transcurso de la reunión y por lo tanto queda suscrito el contrato.

En constancia se firma por los intervinientes.

MARÍA CLAUDIA GARCÍA DÁVILA

Directora Bosques, Biodiversidad y Servicios Ecosistémicos

BEATRIZ ADRIANA ACEVEDO P.

Dirección de Bosques, Biodiversidad y Servicios Ecosistémicos

JUAN CARLOS ULLOA RUBIANO.

Investigador

RAFAEL CORTES LASSO

Representación de la Institución Nacional de Apoyo
Pontificia Universidad Javeriana

LUZ HELENA ESCOBAR MARTÍNEZ

Abogada

Dirección de Bosques, Biodiversidad y Servicios Ecosistémicos

Calle 37 No. 8 – 40 Bogotá, Colombia

Conmutador (571) 3323400

www.minambiente.gov.co

OTROSÍ No. 1 AL CONTRATO DE ACCESO A RECURSOS GENÉTICOS PARA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA SIN INTERÉS COMERCIAL No. 84 DEL 12 DE NOVIEMBRE DE 2013 SUSCRITO ENTRE EL MINISTERIO DE AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE Y JUAN CARLOS ULLOA RUBIANO

El presente otrosí se suscribe, de una parte por **MARIA CLAUDIA GARCÍA DÁVILA**, identificada con la cédula de ciudadanía No. 39.790.569 expedida en Bogotá, quien actúa en su condición de Directora de Bosques, Biodiversidad y Servicios Ecosistémicos del Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, debidamente facultada para suscribir el presente otrosí, de conformidad con lo establecido en el numeral 14 del Artículo 16 del Decreto Ley 3570 de 2011; y por otra parte, **JUAN CARLOS ULLOA RUBIANO**, identificado con cédula de ciudadanía No. 79.794.716 de Bogotá, y **CONSIDERANDO** Que: 1) El Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible a través de la Directora de Bosques, Biodiversidad y Servicios Ecosistémicos suscribió con **JUAN CARLOS ULLOA RUBIANO**, el Contrato de Acceso a Recursos Genéticos Para Investigación Científica Sin Interés Comercial No. 84 del 12 de noviembre de 2013, para el proyecto denominado: "Búsqueda de sustancias inhibidoras de la infección in vitro por rotavirus y astrovirus a partir de una especie vegetal nativa colombiana, perteneciente a la familia *Asteraceae* (*Compositae*)"; 2) Que dicho contrato fue legalizado a través de la Resolución No. 1596 del 19 de noviembre de 2013. 3) Que de conformidad con lo establecido en el Literal a) de la **CLÁUSULA TERCERA**, **JUAN CARLOS ULLOA RUBIANO**, tiene la obligación de circunscribir el acceso a los recursos genéticos y productos derivados, a las cantidades y a los usos, conforme con lo autorizado en el contrato, los permisos y el proyecto presentado al **MINISTERIO** con la solicitud de acceso. 4) Que, **JUAN CARLOS ULLOA RUBIANO**, mediante oficio con radicado No. 4120-E1-6300 del 27 de febrero de 2015, el Señor **JUAN CARLOS ULLOA RUBIANO**, solicitó a la Dirección de Bosques, Biodiversidad y Servicios Ecosistémicos de este Ministerio, prórroga de un año y la suscripción de un otrosí al contrato No. 84 perfeccionado mediante Resolución 1596 del 19 de noviembre de 2013, para incluir actividades que permitan dar continuidad al estudio de una fracción encontrada del extracto total obtenido; 5) Que el grupo de recursos genéticos emitió concepto técnico No. 108 del 25 de marzo de 2015 en el cual recomendó a la Directora aceptar la prórroga y la inclusión de las actividades solicitadas por el Investigador **JUAN CARLOS ULLOA RUBIANO**, para el proyecto denominado "Búsqueda de sustancias inhibidoras de la infección *in vitro* por rotavirus y astrovirus a partir de una especie vegetal nativa colombiana, perteneciente a la familia *Asteraceae* (*Compositae*)"; 6) Que, mediante comunicado con radicado No. 4120-E1-13255 del 24 de abril de 2015, el Señor **JUAN CARLOS ULLOA RUBIANO**, manifestó haber revisado el borrador del Otrosí al contrato No. 84 perfeccionado mediante Resolución 1596 del 19 de noviembre de 2013, y solicitó la adición de dos actividades específicas más para complementar la investigación. 7) Que, mediante oficio radicado No. 8210-2-13255 del 7 de mayo de 2015, la Dirección de Bosques, Biodiversidad y Servicios

OTROSÍ No. 1 AL CONTRATO DE ACCESO A RECURSOS GENÉTICOS PARA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA SIN INTERÉS COMERCIAL No. 84 DEL 12 DE NOVIEMBRE DE 2013 SUSCRITO ENTRE EL MINISTERIO DE AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE Y JUAN CARLOS ULLOA RUBIANO

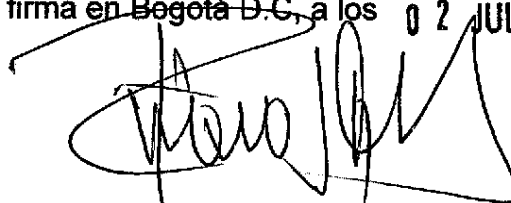
Ecosistémicos de éste Ministerio, requirió al Señor **JUAN CARLOS ULLOA RUBIANO** allegar el procedimiento que se pretende llevar a cabo para cada una de las actividades que solicita incluir en el Otrosí al contrato y aclarar el alcance del término producto fitoterapéutico tradicional. **8)** Que, mediante comunicado con radicado No. 4120-E1-17015 del 26 de mayo de 2015, el señor **JUAN CARLOS ULLOA RUBIANO** allegó la respuesta a los requerimientos realizados por este Ministerio. **9)** Que el grupo de recursos genéticos con base en la respuesta dada por el señor **JUAN CARLOS ULLOA RUBIANO** emitió concepto técnico No. 110 del 4 de junio de 2015 en el cual recomienda a la Directora aceptar la inclusión de las actividades solicitadas por el Investigador. Que en consideración a lo anterior, las partes en ejercicio de la autonomía de la voluntad, acuerdan suscribir el presente otrosí al Contrato de Acceso a Recursos Genéticos Para Investigación Científica sin Interés Comercial No. 84 del 12 de noviembre de 2013, de conformidad con las siguientes **CLAUSULAS: PRIMERA.** Se adiciona a la Cláusula Segunda las actividades descritas en las solicitudes de otrosí, la cláusula quedará así: **CLAUSULA SEGUNDA.- ALCANCE DEL OBJETO:** Se realizará una colecta del material vegetal y a partir de las hojas se obtendrán por medios fitoquímicos (extracción líquido/líquido) extractos y fracciones con los cuales se realizarán ensayos biológicos para valorar si tienen una actividad antiviral in vitro contra rotavirus y astrovirus, adicionalmente con el extracto total y con una fracción encontrada a partir de este, se realizarán las siguientes actividades: **1)** Determinar la composición química de un producto fitoterapéutico tradicional piloto preparado con el extracto total de las partes aéreas de *A. bogotensis* y confirmar la presencia de los compuestos mayoritarios previamente determinados en la fracción vegetal activa HM1 contra rotavirus y astrovirus. **2)** Valorar la citotoxicidad del producto fitoterapéutico tradicional piloto sobre líneas celulares de origen hepático, renal e intestinal. **3)** Realizar la valoración de la actividad antiviral in vitro (actividad virucida y antiviral post-infección), ejercida por el mismo producto, **4)** Realizar una proyección sobre su potencial uso in vivo, **5)** Valorar la toxicidad sub-aguda del producto fitoterapéutico de uso tradicional obtenido. **6)** Evaluar in vivo si el tratamiento con el producto fitoterapéutico obtenido ejerce una disminución de la duración y en los efectos producidos por la enfermedad diarreica aguda provocada por rotavirus y/o astrovirus. El presente contrato de acceso a recursos genéticos y producto derivado, se suscribe con fines de investigación científica y por lo tanto restringe cualquier tipo de lucro en esta etapa. **SEGUNDA:** Se prorroga en (1) un año el plazo de ejecución del contrato previsto en la Cláusula Sexta la cual quedará así: **CLAUSULA SEXTA.- PLAZO DE EJECUCIÓN DEL CONTRATO:** El término de ejecución del presente contrato será de tres (3) años contados a partir de la ejecutoria del acto administrativo por medio del

OTROSÍ No. 1 AL CONTRATO DE ACCESO A RECURSOS GENÉTICOS PARA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA SIN INTERÉS COMERCIAL No. 84 DEL 12 DE NOVIEMBRE DE 2013 SUSCRITO ENTRE EL MINISTERIO DE AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE Y JUAN CARLOS ULLOA RUBIANO

cual se perfecciona el presente contrato. **TERCERA:** Se modifica la Cláusula Décima Segunda, de acuerdo con la prórroga realizada al plazo de ejecución del contrato, esta cláusula quedará así: **DÉCIMA SEGUNDA.- INFORMES:** 1) Deberá entregar en medio impreso y/o magnético un (1) informe de avance, finalizado el primer (1) año contado desde el perfeccionamiento del presente contrato, un segundo informe de avance, finalizado el segundo año de ejecución del contrato y un (1) informe final, en un plazo no superior a 30 días hábiles, desde el vencimiento del plazo del presente contrato, según los lineamientos señalados en la Decisión Andina 391 de 1996. 2) Dichos informes deberán elaborarse de acuerdo con las actividades de acceso autorizadas y las obligaciones establecidas en el presente contrato. 3) Copia de los citados informes deberá ser remitida a la Pontificia Universidad Javeriana en su calidad de Institución Nacional de Apoyo. 4) **EL MINISTERIO** evaluará dichos informes, emitirá concepto y lo comunicará por escrito **AL INVESTIGADOR**, dentro de los treinta (30) días siguientes a su recepción. En dicha comunicación, **EL MINISTERIO** incluirá los requerimientos o comentarios para complementación, corrección o ajuste de los respectivos informes, conforme a lo dispuesto en el presente contrato. 5) Dentro de los treinta (30) días siguientes a la fecha de envío de la comunicación de requerimientos y ajustes, **EL INVESTIGADOR**, entregará al **MINISTERIO** respuesta escrita con las complementaciones, correcciones o ajustes al respectivo informe. 6) **EL MINISTERIO** evaluará dicha información, emitirá concepto y lo comunicará por escrito **AL INVESTIGADOR**. **CUARTA.- Perfeccionamiento.** El presente otrosí se entiende perfeccionado en la fecha de suscripción del mismo por las partes **QUINTA.- Vigencia de Estipulaciones.** Las demás cláusulas y términos del Contrato de Acceso a Recursos Genéticos Para Investigación Científica sin Interés Comercial No. 84 del 12 de noviembre de 2013, no modificados por el presente documento, conservan su vigencia y alcance. Para constancia se firma en Bogotá D.C., a los 02 JUL 2015



MARÍA CLAUDIA GARCÍA DÁVILA
Directora de Bosques, Biodiversidad y
Servicios Ecosistémicos



JUAN CARLOS ULLOA RUBIANO
Investigador

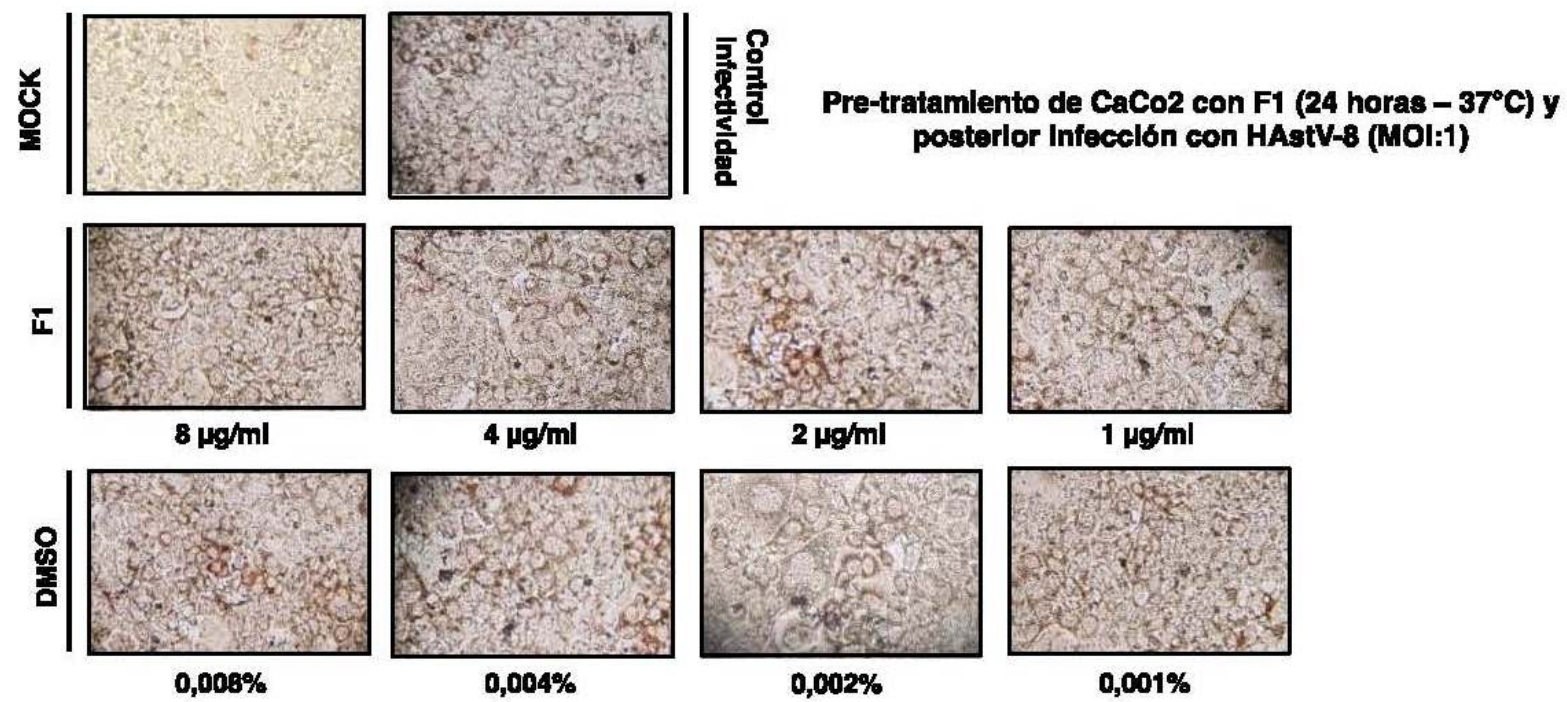
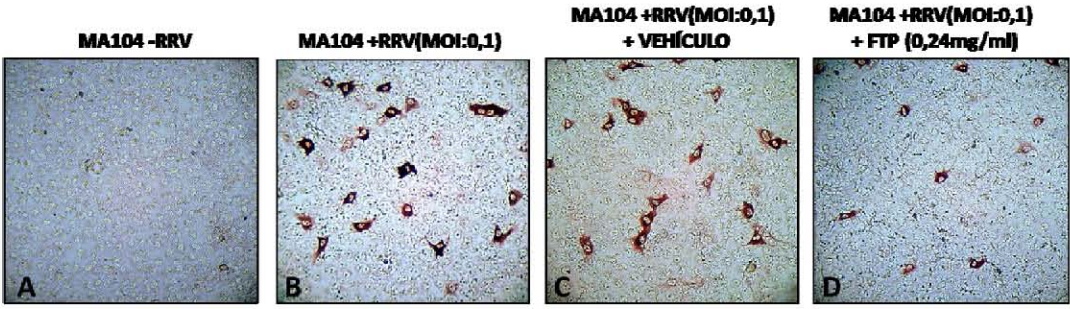


Figura 7



5

Figura 16

10

15

20

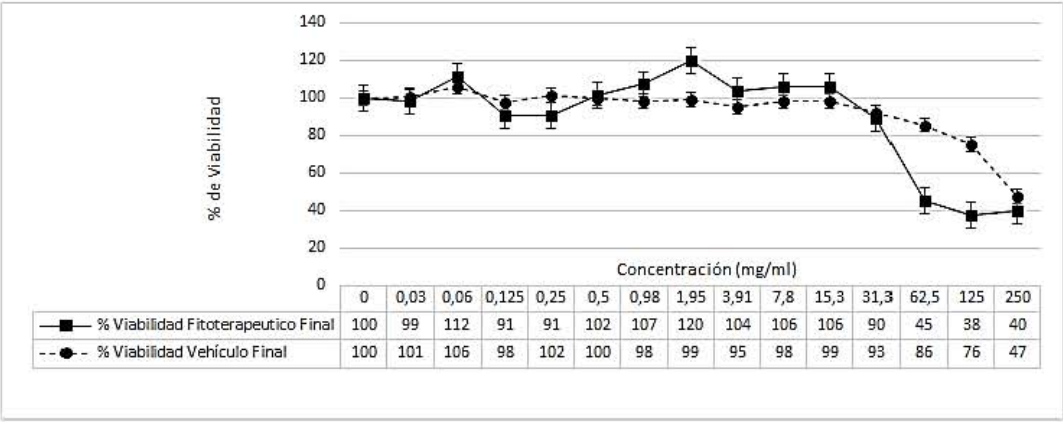


Figura 15

5

10

15

20

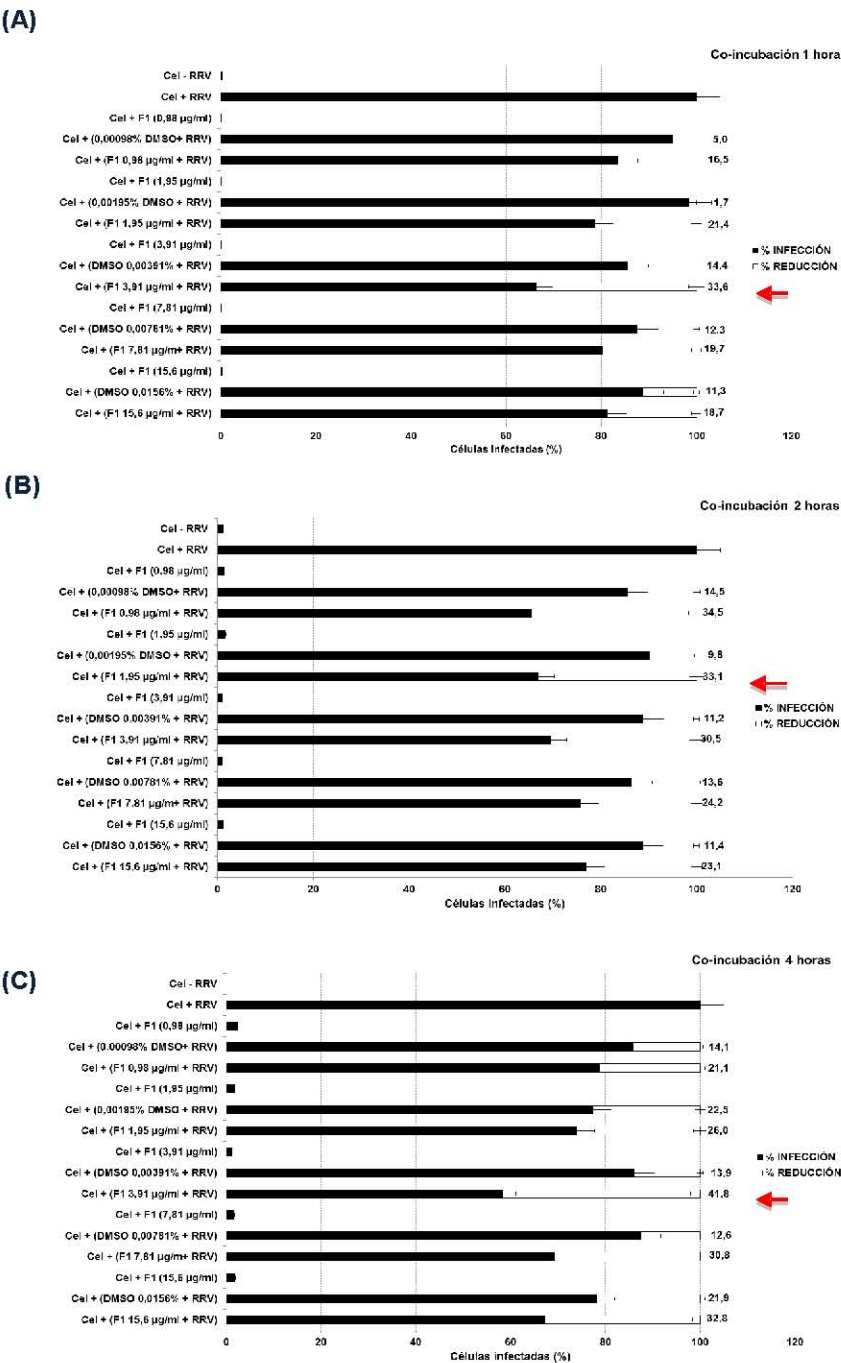


Figura 9

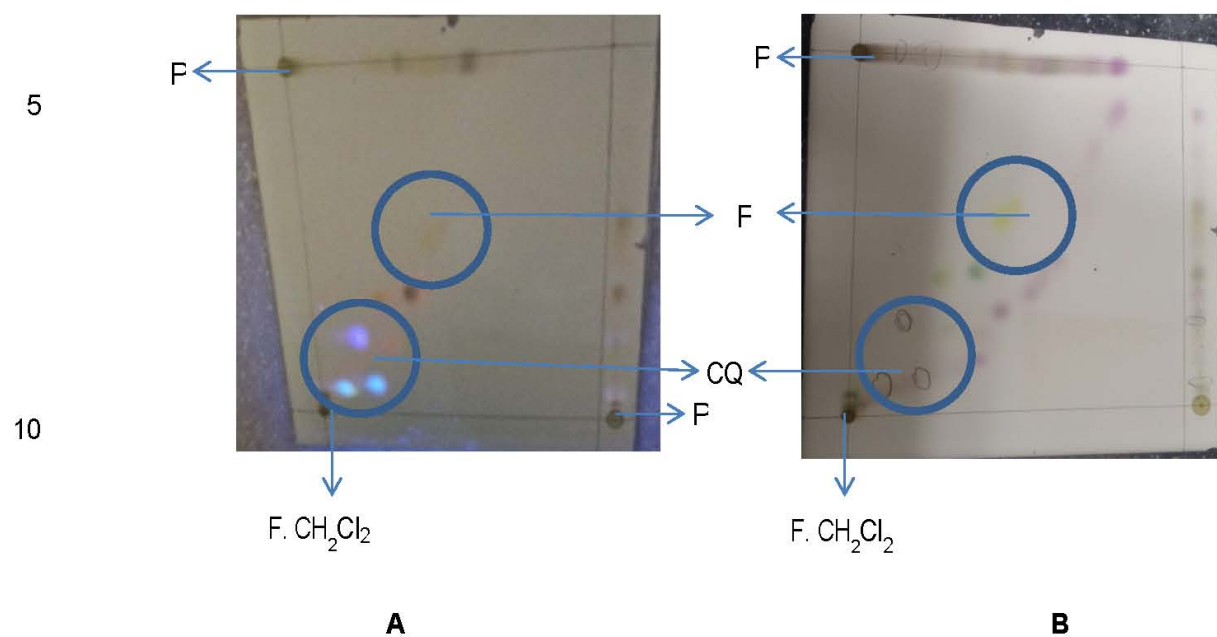


Figura 14

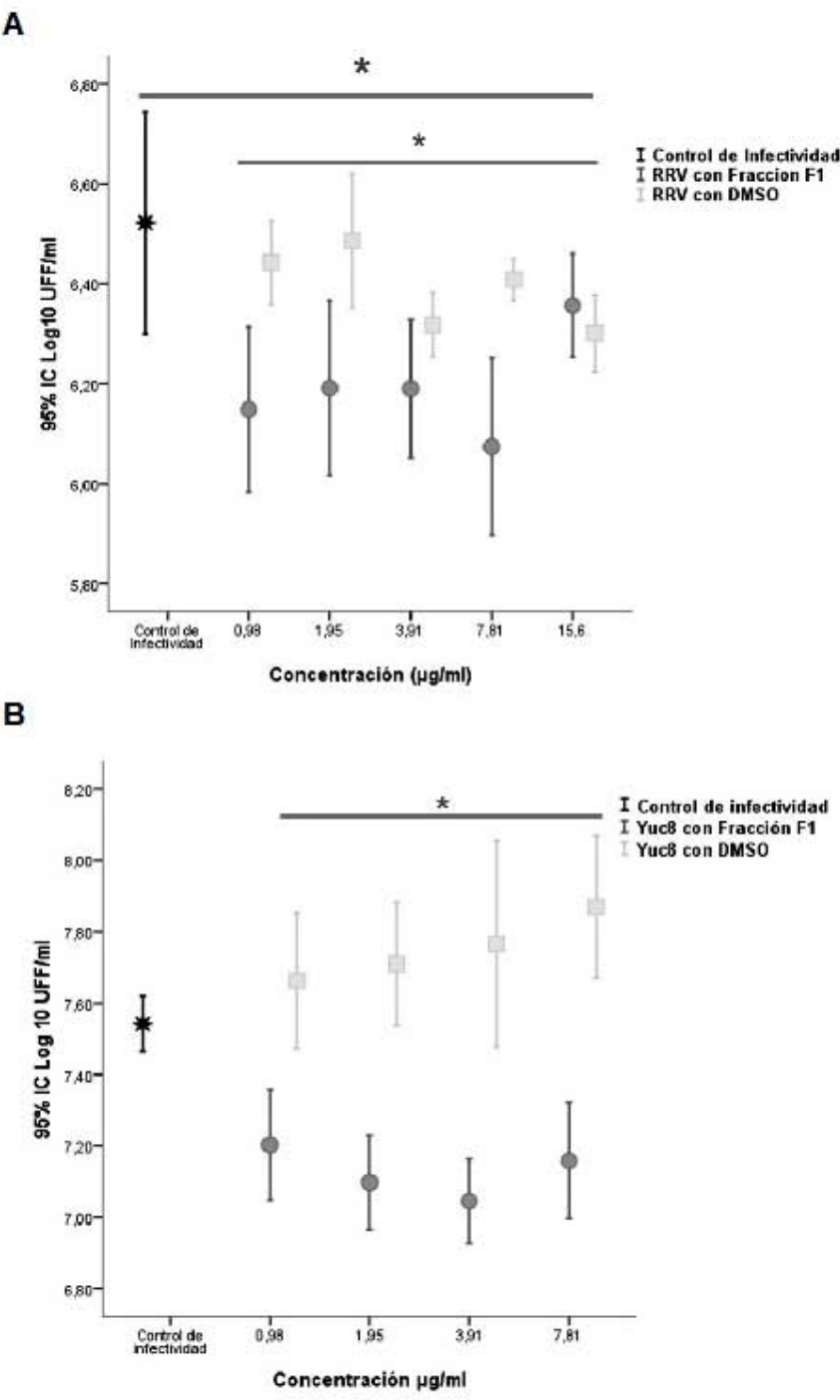
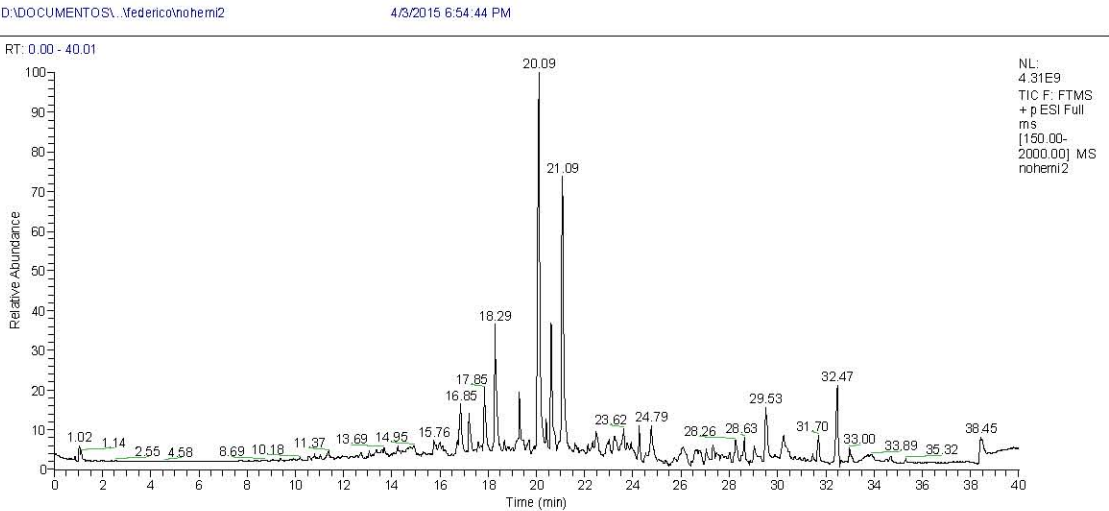


Figura 13



b)

5

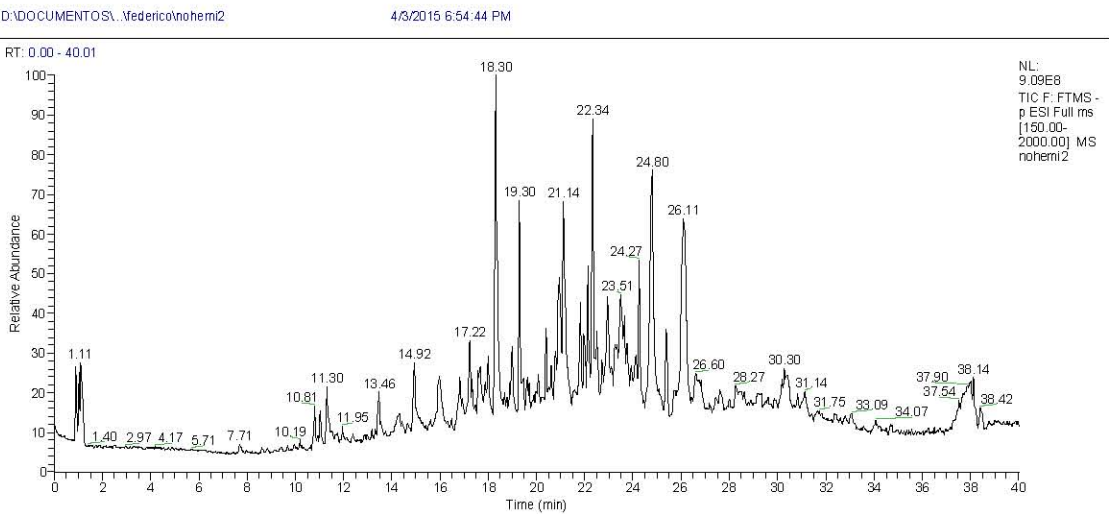


Figura 3

10

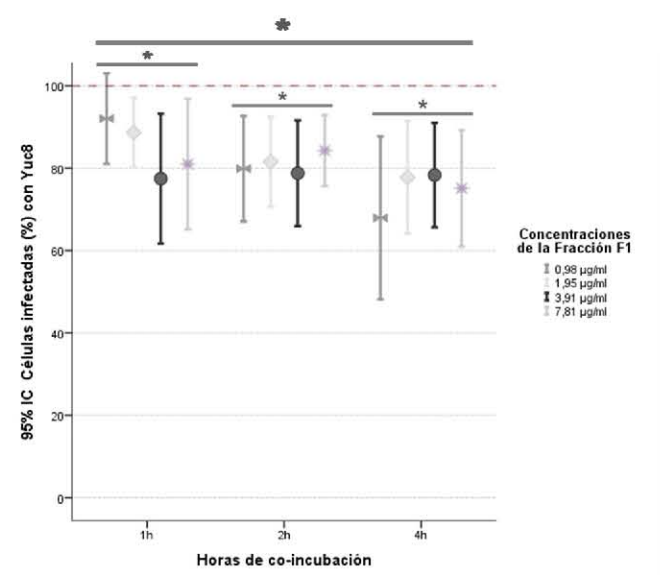
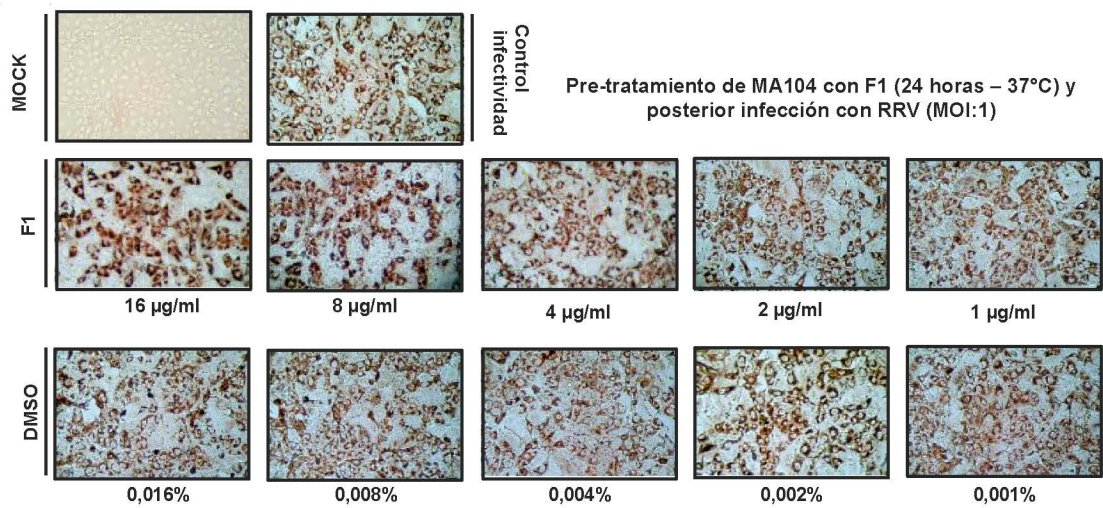


Figura 12

5

10

15



5 **Figura 6**

10

15

20

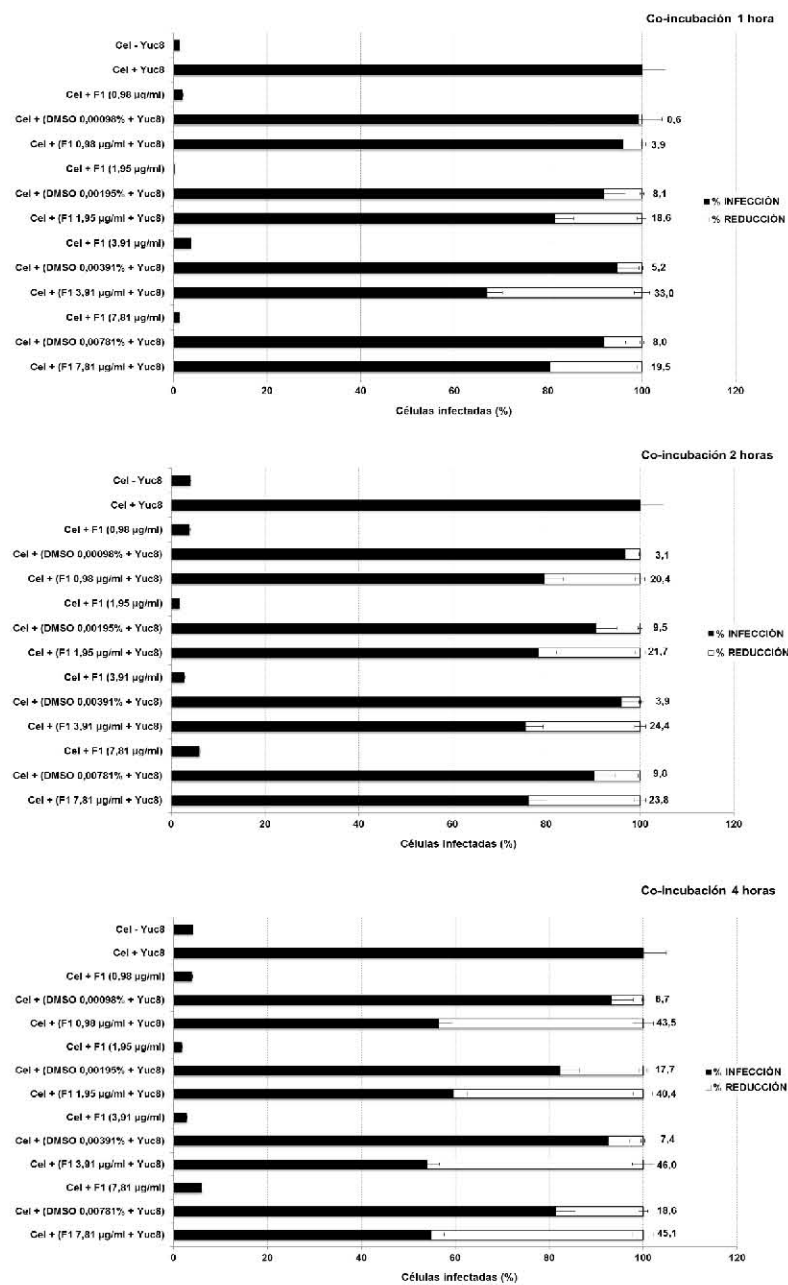


Figura 10

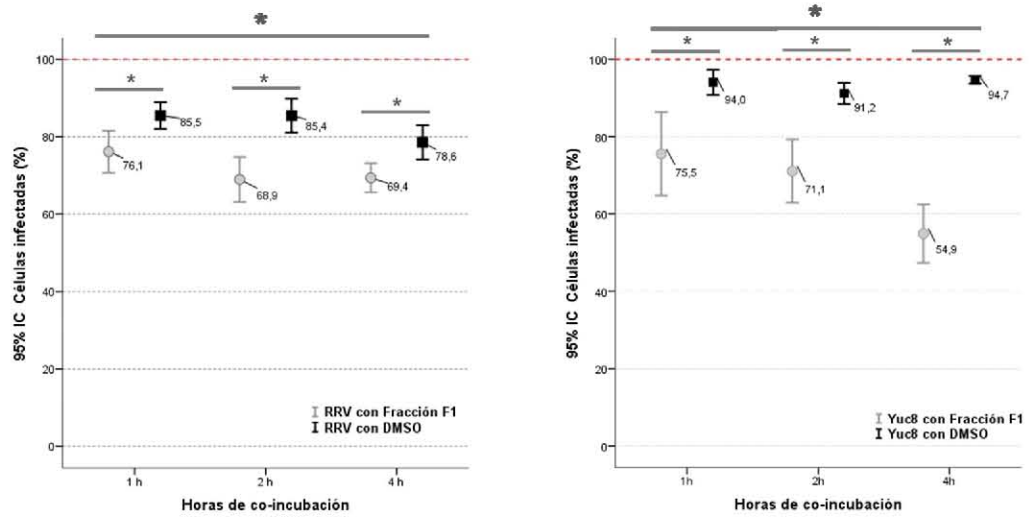


Figura 11

5

10

15

20

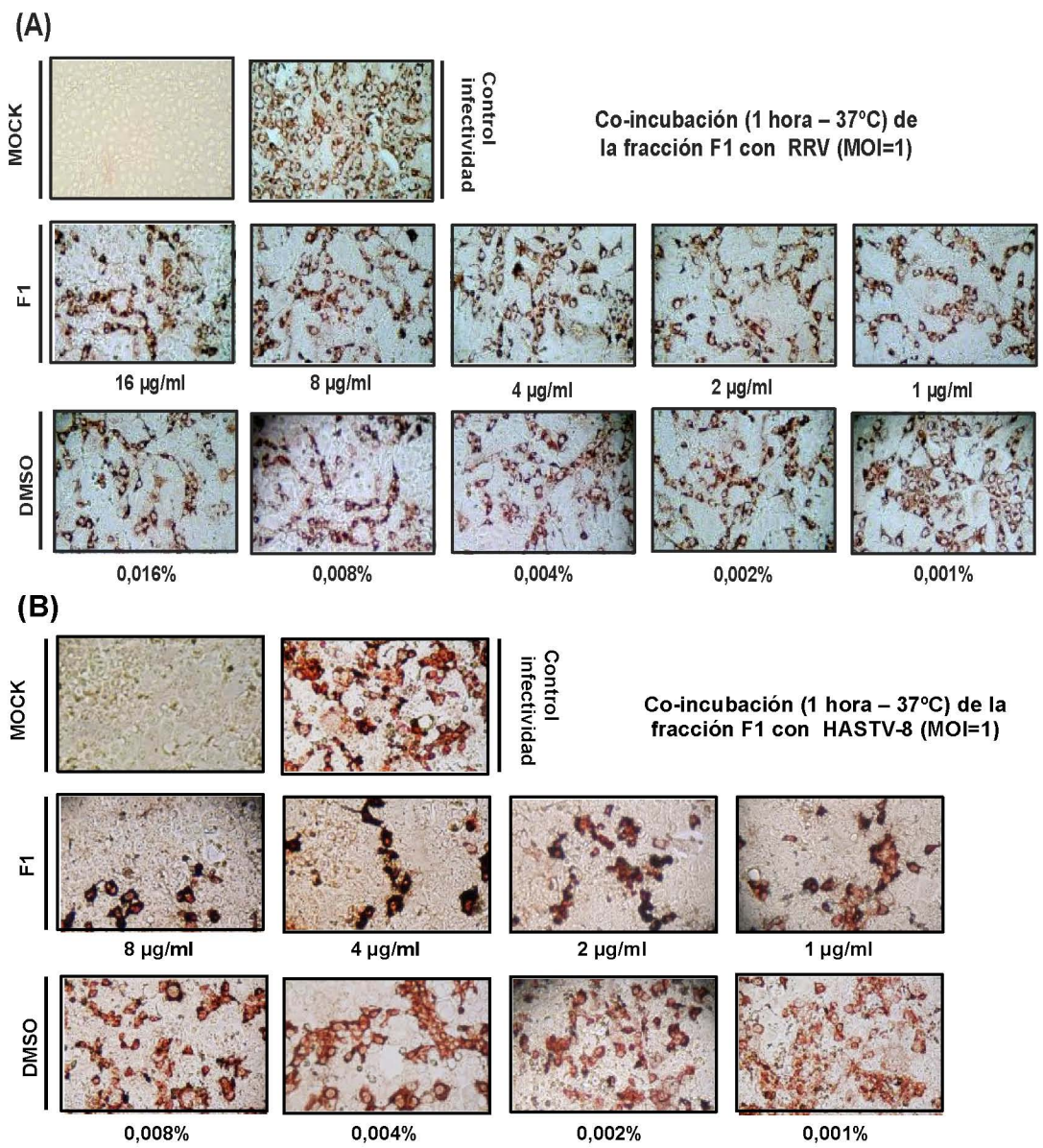


Figura 8

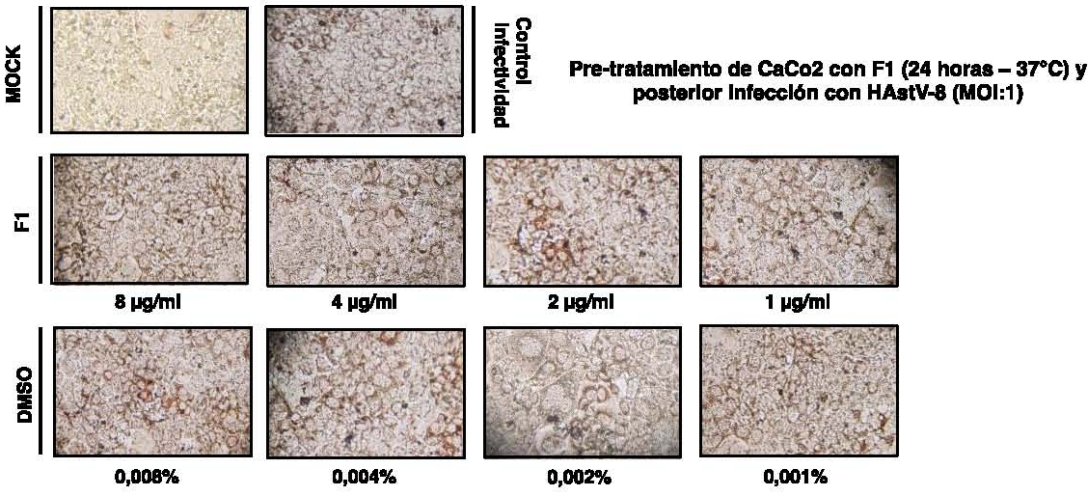


Figura 7

5

10

15

20

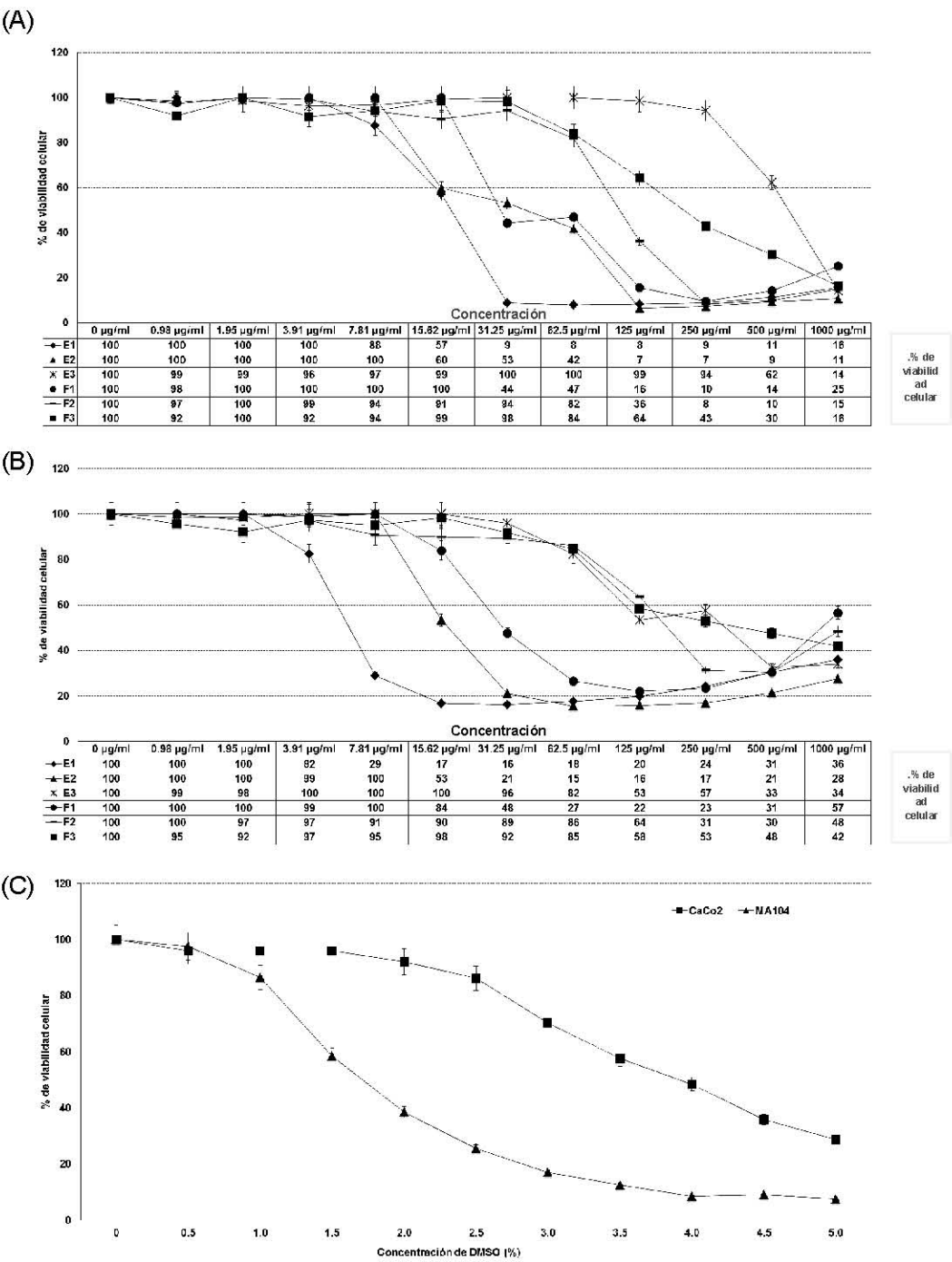


Figura 5

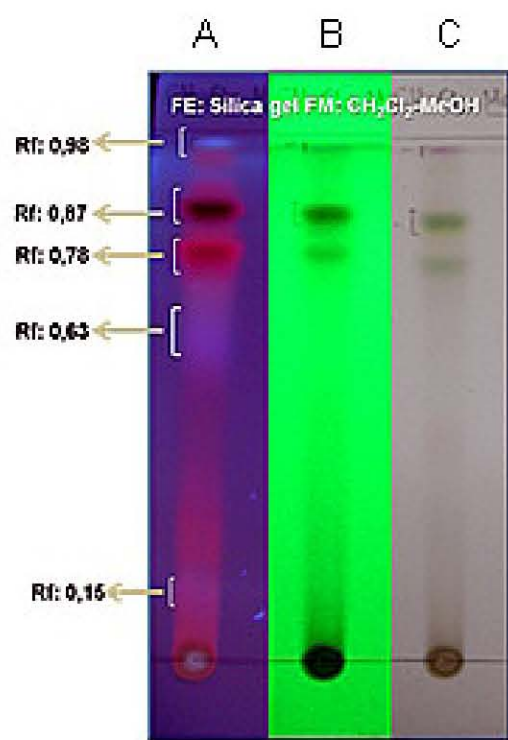


Figura 1

MARCHA FITOQUÍMICA

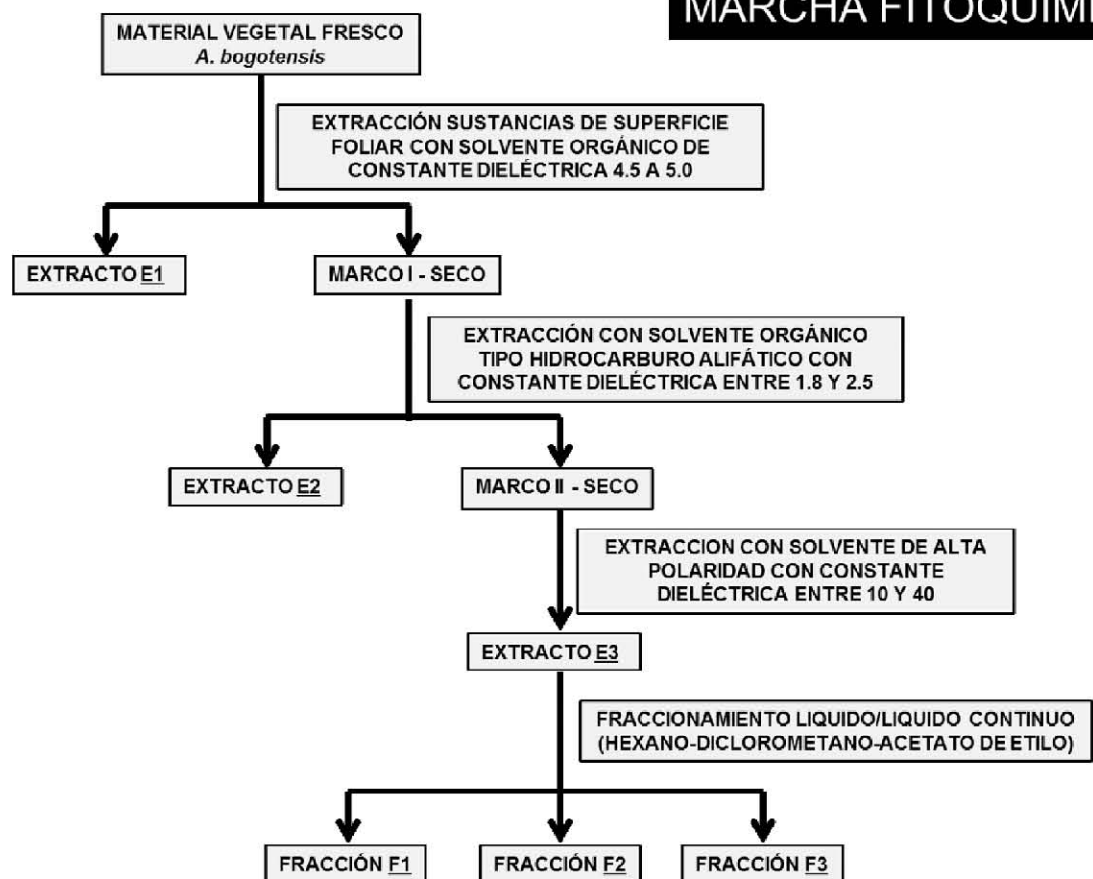


Figura 4

5

10

File :D:\msdchem\1\data\REYES\MAYRAF1.D
Operator : ARC
Acquired : 11 Jun 2013 10:43 using AcqMethod DIAN-IVAN.M
Instrument : Instrument #1
Sample Name: MayraF1
Misc Info :
Vial Number: 1

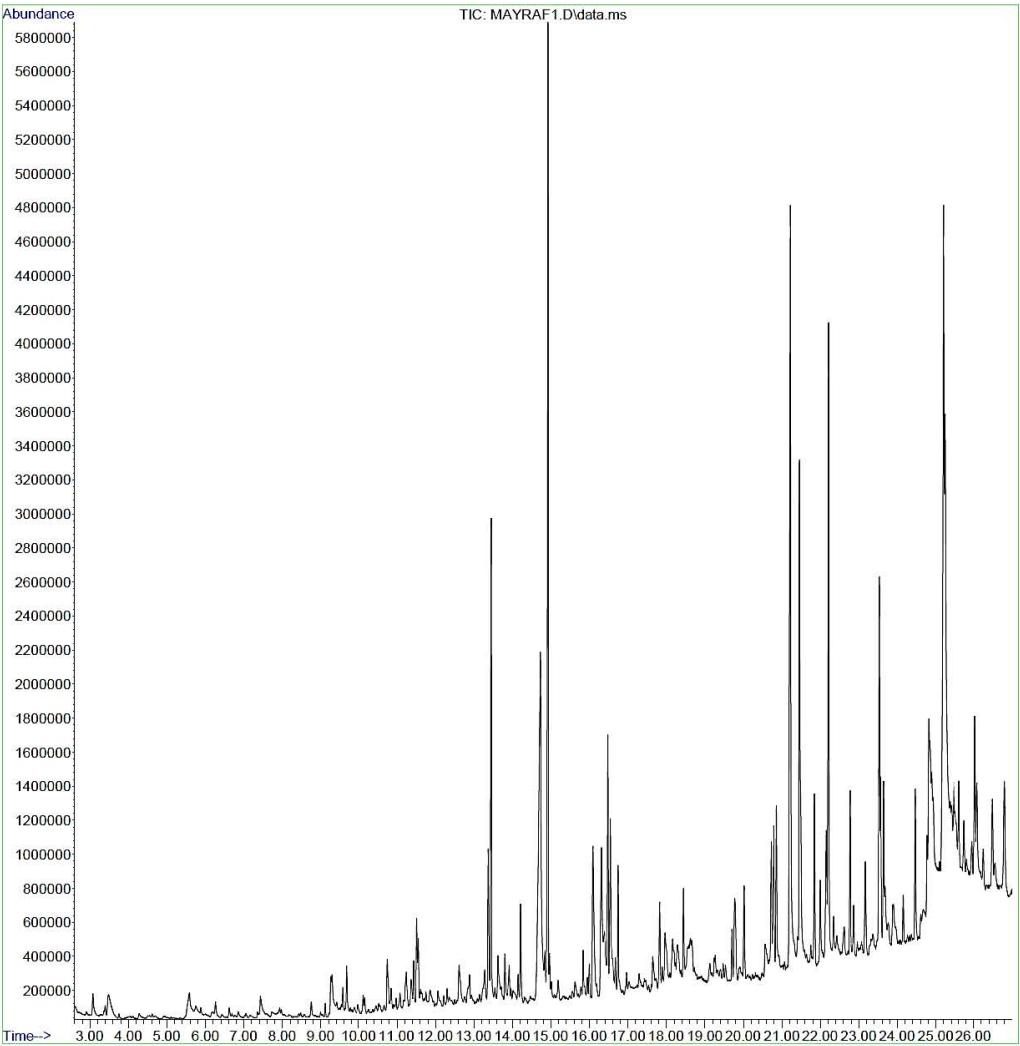


Figura 2

5

10 a)

**FRACCIÓN BIOACTIVA DE *Achyrocline bogotensis* (KUNTH) DC.
(*Compositae*) CON ACTIVIDAD ANTIVIRAL**

La presente invención emplea material biológico de la planta *Achyrocline bogotensis*, especie endémica colombiana que fue colectada en el municipio de Chía, Cundinamarca - Colombia, amparados con el permiso de colecta con fines de investigación científica en diversidad biológica N° 1439 otorgado por la Autoridad Nacional de Licencias Ambientales – ANLA. Asimismo, el análisis de productos derivados de esta planta, fue realizado amparados con el contrato de acceso a recursos genéticos para investigación científica sin interes comercial N° 084, resolución No. 1596 del 19 de noviembre de 2013 otorgado por el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible.

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención pertenece al campo de las ciencias biomédicas aplicadas a la salud humana y animal, y específicamente del control de infecciones virales, y el manejo de la enfermedad diarreica aguda, especialmente aquella causada por virus de tipo Rotavirus y Astrovirus.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La enfermedad diarreica aguda (EDA) afecta a millones de personas en todo el mundo produciendo un fuerte impacto principalmente entre los niños. La enfermedad se contrae preferentemente durante los 5 primeros años de vida, presentándose con varios episodios por año donde se exhiben alteraciones nutricionales, deshidratación severa y muerte en algunos casos (UNICEF/WHO, 2009).

30

La OMS estima que cada año se presentan 1.700 millones de episodios de diarrea en niños menores de cinco años y es una de las principales

causas de mortalidad ocasionando el 11% de las muertes en este grupo etario. En Colombia durante el 2014 se reportaron en promedio 55.000 casos mensuales de diarrea aguda y 129 muertes (INS, Boletín epidemiológico semanal 2014). La diarrea puede durar alrededor de 5 días y puede privar al organismo del agua y las sales necesarias para la supervivencia. La mayoría de las personas que fallecen por enfermedades diarreicas en realidad mueren por una grave deshidratación y pérdida de líquidos. Los niños malnutridos o inmunodeprimidos son los que presentan mayor riesgo de enfermedades diarreicas potencialmente mortales (UNICEF/WHO, 2009). Si bien los casos de diarrea han disminuido en las dos últimas décadas, esta enfermedad sigue siendo la segunda causa de mortalidad en niños menores de 5 años (Cotes *et al.*, 2013).

Dentro de los agentes causantes de EDA se encuentra el rotavirus que produce una diarrea con duración limitada hasta una diarrea severa con vómito, fiebre y deshidratación. Se reportó que este patógeno viral causa unas 453.000 muertes de niños menores de 5 años, equivalentes al 37% de las muertes por diarrea y 5% del total de las muertes en este grupo etario. Aproximadamente el 80% de estas muertes ocurren en países en desarrollo, provocadas por desnutrición, inadecuados sistemas de salud y poca accesibilidad de recursos (Parashar *et al.*, 2009). Los métodos moleculares de diagnóstico desarrollados en las dos últimas décadas muestran que los astrovirus son los agentes más importantes causantes de EDA después de los rotavirus. Los principales síntomas que se presentan durante la infección por astrovirus son diarrea acuosa, náuseas, vómito, fiebre y en algunos casos pérdida del apetito y deshidratación. Estos síntomas generalmente permanecen de 2 a 3 días pero pueden persistir hasta 12 días, sobre todo en individuos inmunocomprometidos (Caballero, 2004). Se han reportado en todo el mundo casos de diarrea en niños, adultos y ancianos producidos por astrovirus, y a su vez se ha descrito que su incidencia oscila entre el

2% y 9% en niños con EDA tanto en países en desarrollo y desarrollados. Astrovirus también ha sido asociado con infecciones nosocomiales intra-hospitalarias y son reportados como causantes de diarrea persistente en pacientes inmunocomprometidos (Schultz-Cherry, 2013). Según García y colaboradores en el 2013, en el 14% de 51 casos analizados de EDA, se identificó co-infección, siendo rotavirus y astrovirus los agentes más frecuentemente involucrados (García-Magán *et al.*, 2013).

Los protocolos descritos por la OMS para tratar esta patología están dirigidos a la rehidratación del paciente pero no se dispone de un medicamento antiviral que reduzca la duración de la enfermedad. A diferencia de los astrovirus, para los rotavirus existen en el mercado dos vacunas con buena eficacia que generan una protección mayor del 90% (Cotes *et al.*, 2013). Sin embargo, estas vacunas representan una herramienta inmunopreventiva (no tratamiento) que reduce la posibilidad de contraer una diarrea contra algunos tipos de rotavirus, sin embargo, es claro que no protegen contra todos los tipos existentes en la naturaleza.

Adicionalmente, se han reportado algunos problemas como el reordenamiento génico de las cepas vacunales con las silvestres lo que evidencia una falta de protección contra fenotipos virales nuevos, generando que la producción de vacunas efectivas contra las cepas activas sea limitada (Parez & Garbarg-Chenon, 2008; Atherly 2009; Bowen 2012).

Por otra parte, se han usado algunos productos naturales tradicionalmente para tratar la enfermedad gastrointestinal, pero hasta el momento no existe un producto fitoterapéutico tradicional con actividad científicamente comprobada para tratar la infección inducida por virus enteropatógenos como rotavirus y astrovirus.

El rotavirus (RV) es un género viral perteneciente a la familia *Reoviridae* y se asocia con moderados y severos problemas de gastroenteritis en la población infantil tanto en humanos como en la gran mayoría de las especies animales (Wolf *et al.*, 2012). Es un virus RNA de cadena doble con un tamaño aproximado de 75 - 100 nm de diámetro, desnudo, de simetría icosaédrica. Observado al microscopio electrónico tiene aspecto de rueda (*rota* en latín) (Parez & Garbarg-Chenon, 2008).

El RV es reconocido desde su descubrimiento en 1973 por Ruth Bishop, como el más importante de los agentes causantes de EDA en infantes, llevando a procesos de deshidratación y hospitalización del menor (Chen *et al.*, 2002; Lundgren & Svensson, 2001). Innumerables son los reportes que se encuentran sobre la epidemiología de esta enfermedad en diferentes partes del mundo en los cuales, para los años 80 se estimaba que el rotavirus era el responsable de aproximadamente 870 mil muertes por año en niños menores de 5 años (Greenberg & Estes, 2009). En el año 2000, se estimaba que entre el 12 y el 71% de los casos de diarrea en estos niños, eran producidos por este virus y que estaba asociado con más de 125 millones de casos de EDA con un número aproximado de 418.000 a 520.000 muertes en países subdesarrollados (Linhares & Bresee, 2000). En un estudio reciente se estimó que la mortalidad por diarrea debida a rotavirus ha disminuido después de la introducción de las vacunas antirrotavíricas. Sin embargo, rotavirus continúa causando unas 453 mil muertes por año en menores de 5 años, es decir un 37% de las muertes por diarrea y 5% del total de muertes en este grupo etario (Cotes *et al.*, 2013). Se estima que el 80% de estas muertes se producen en países en desarrollo, debido a la desnutrición, poco acceso a recursos e inadecuados sistemas de atención en salud (John, Devgan, & Mitra, 2014; Cotes *et al.*, 2013; Esparza *et al.*, 2009).

Una de las principales características epidemiológicas de la diarrea causada por RV es que cada año, en la misma o en diferentes regiones del mundo se encuentran RV de diferente tipo. Así pues, el RV puede estar presente endémica o epidémicamente en una misma región en
5 donde pueden aparecer simultáneamente diferentes serotipos, genotipos y electroferotipos virales (Bishop *et al.*, 2001; Padilla-Noriega *et al.*, 1998). La clasificación actual (genotipificación) de rotavirus se basa en el análisis de las secuencias de los genes que codifican para las proteínas VP7 (G) y VP4 (P), siendo las combinaciones genéticas
10 predominantes en humanos en el mundo G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8] y G9P[8] (Lucero *et al.*, 2012). Debido a que rotavirus cuenta con la propiedad natural de recombinar genes (Parez & Garbarg-Chenon, 2008), se produce combinaciones genéticas inusuales de G y P, producto de infecciones de diferentes rotavirus o rotavirus mixtos.
15 Según datos analizados, las infecciones por rotavirus mixtos se han detectado en América del Sur, Asia, África, América del Norte, Australia y Europa, en un promedio de aproximadamente 15%, 12%, 10%, 4,8%, 2,3% y 1,8 %, respectivamente. Cabe destacar el hallazgo de que algunas de las combinaciones inusuales, tales como G1P[4], G2P[8],
20 G3P[4] y G4P[4] se han detectado en una frecuencia relativamente alta en diferentes partes del mundo, sugiriendo su estabilidad genética y capacidad potencial de propagación entre las poblaciones (Santos & Hoshino, 2005).

25 En América Latina hay aproximadamente más de 15 mil muertes por año relacionadas con infecciones con rotavirus. En Colombia, estudios sobre la frecuencia de infecciones por rotavirus en pacientes ambulatorios y hospitalizados con diarrea, reportaron que ocurre en temporadas con dos picos al año, en los meses de marzo y
30 septiembre. Se estima que anualmente en Colombia, se producen alrededor de 1,5 millones de episodios de diarrea por todas las causas, entre 60 mil y 90 mil hospitalizaciones y que el rotavirus podría causar

hasta 40 mil hospitalizaciones y 100 mil consultas por diarrea en niños menores de 2 años (De la Hoz *et al.*, 2010). En Colombia durante el 2014 se reportaron en promedio 55.000 casos mensuales de diarrea aguda y 129 muertes (INS - Boletín epidemiológico semanal 2014).

5

Otra característica típica del comportamiento de rotavirus es que puede presentarse solo o en co-infecciones. Según datos reportados en 2003, co-infecciones dadas por rotavirus – astrovirus fueron más frecuentes, seguidas de las co-infecciones de rotavirus-adenovirus. El 74% (29/39)
10 de los casos de co-infección, rotavirus fue el agente más comúnmente implicado, seguido por astrovirus con un 59% (23/39) y adenovirus con un 41% (16/39) (Roman, 2003).

Hasta el momento, como medida de control para RV existen dos
15 vacunas orales: la vacuna monovalente atenuada Rotarix™ derivada de la cepa 89-12 y la cepa RIX4414 de especificidad G1P[8] de rotavirus humano (HRV); ésta ha sido evaluada en América Latina, Europa y Asia, demostrando una eficacia de 72–74% contra la diarrea por RV de cualquier grado de severidad y una mayor eficacia de 85-98%
20 contra diarrea severa por RV (Bayard *et al.*, 2012; Muhsen *et al.*, 2010; Wood, 2005). Resultados adicionales del estudio de eficacia de la vacuna en América Latina mostraron que es significativa (83% [IC 95%: 40- 97%]) frente a los serotipos no G1, que eran predominantemente cepas G9 (Glass *et al.*, 2006).

25

La segunda vacuna disponible contra RV se denomina Rotateq®, que es pentavalente y esta constituida por cinco rotavirus reordenados vivos; estos virus muestran en su superficie las proteínas VP7 o VP4 de RV humano más frecuentes en infantes (serotipos G1, G2, G3, G4 y VP4
30 tipo P1A) (Max Ciarlet & Schödel, 2009; De la Hoz *et al.*, 2010). Esta vacuna ha sido evaluada en al menos ocho estudios clínicos de once países, demostrando protección contra gastroenteritis producida por RV

de cualquier severidad en un 70% y un 100% de protección a la gastroenteritis severa.

Sin embargo, estas vacunas tienen desventajas en común relacionadas con el uso de virus vivos atenuados, así como el riesgo de propagación de los virus de la vacuna en el ambiente a través de su excreción en las heces, el riesgo de reversión hacia la virulencia, el riesgo de reordenamiento genético entre cepas vacunales y cepas virales silvestres. De igual forma, existen desventajas vinculadas a la vía de administración oral como el potencial efecto inhibidor de la lactancia materna en la eficacia de las vacunas o el riesgo de interferencia inmunológica en caso de administración conjunta con la vacuna oral contra la poliomielitis, así como el aumento del riesgo de invaginación intestinal en el recién nacido vacunado. Finalmente, las vacunas actuales no pueden ser administradas antes de las 6 semanas edad, debido a que el sistema inmune de los niños aún es inmaduro. De igual forma, no se recomienda el uso de vacunas vivas atenuadas en niños inmunodeprimidos o con desnutrición severa, un contexto particularmente frecuente en varios países en desarrollo (Parez & Garbarg-Chenon, 2008; Parez, 2008).

Adicionalmente, las vacunas desarrolladas contra el RV representan una medida profiláctica, pero estas no tienen efecto una vez la persona o el animal ha estado en contacto con el virus y este ha iniciado su ciclo infectivo. Por ello, productos terapéuticos que realmente controlen la multiplicación del virus en el organismo infectado aún no están disponibles.

Por su parte, los astrovirus (AstV) son unos virus redondos (28-41nm) (SSRV's: small structure round viruses) con apariencia característica de cinco o seis puntas similar al de una estrella (Astron, en griego) (Madeley & Cosgrove, 1975). Basándose en estas características

estructurales y en otras observaciones del genoma de astrovirus, el Comité Internacional de Taxonomía de los Virus (ICTV) los clasifica en la familia *Astroviridae*, la cual se divide en dos géneros *Mamastrovirus* y *Avastrovirus*. El género *Mamastrovirus* incluye los astrovirus de mamíferos y el género *Avastrovirus* incluye los que infectan aves (International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV), 2014). Desde entonces estos virus han sido identificados en asociación con gastroenteritis en una amplia variedad de mamíferos además de los humanos, incluyendo corderos (Snodgrass *et al.*, 1979), terneros (Woode & Bridger, 1978), ciervos (Tzipori *et al.*, 1981), lechones (Bridger, 1980), gatos (Hoshino *et al.*, 1981), ratones (Kjeldsberg & Hem, 1985), perros (Martella *et al.*, 2011; Williams, 1980), murciélagos (Chu *et al.*, 2008), delfines, leones marinos (Rivera *et al.*, 2010), guepardos (Atkins *et al.*, 2009), ratas (Chu *et al.*, 2010) y visones (Blomström *et al.*, 2010). También los astrovirus se han identificado en aves como pavos (McNulty *et al.*, 1980; Reynolds & Saif, 1986), patos (Chen *et al.*, 2012; Gough *et al.*, 1985), pollos (Imada *et al.*, 2000), palomas (Zhao *et al.*, 2011) y gallinas de guinea (Cattoli *et al.*, 2005).

Se cree que los mecanismos fisiopatológicos de infección *in vivo* por AstV, pueden ser muy similares a los utilizados por los RV, pero debido a que la patogénesis de este virus ha sido poco estudiada principalmente porque no se dispone de un modelo animal apropiado y adicionalmente no han sido caracterizados receptores tisulares para estos hasta el momento. Sin embargo, basados en observaciones reportadas, se soporta la hipótesis de que la replicación del virus se lleva a cabo esencialmente en las vellosidades intestinales del intestino delgado, aunque también se han reportado casos donde astrovirus está relacionado con otras patologías diferentes a la Enfermedad Diarreica Aguda (Schultz-Cherry, 2013). Adicionalmente, se conoce un reporte de la detección de AstV en el intestino de un paciente sometido a trasplante de médula ósea (Sebire *et al.*, 2004), demostrando que también puede

infectar pacientes inmunodeficientes o inmunocomprometidos.

La enfermedad diarreica producida por astrovirus ha sido reportada ampliamente en todo el mundo principalmente en la población infantil menor de 5 años de edad. Hoy en día, se habla de que los HAsTVs causan del 2 al 10% de episodios de diarrea en la población infantil (Liu *et al.*, 2010; Maldonado *et al.*, 1998; Medina *et al.*, 2000; Mustafa *et al.*, 1998; Palombo & Bishop, 1996), sin contar con casos no diagnosticados. Estudios de seroprevalencia indican que la mayoría de los niños adquieren anticuerpos contra astrovirus a temprana edad, con un 7% de prevalencia en los niños de 6 a 12 meses de edad y el aumento de hasta el 75% en niños de 10 años de edad (Koopmans *et al.*, 1998; Kriston *et al.*, 1996; Kurtz & Lee, 1978). La incidencia de infecciones por astrovirus media mundial es de alrededor de 11 %, siendo el 23% y el 7% en zonas rurales y urbanas, respectivamente. Incidencias medias tienden a ser mayores en los países en desarrollo, con la excepción del África subsahariana, que muestra una baja incidencia de HAsTV (Schultz-Cherry, 2013).

Los estudios en América latina son escasos. Países como Argentina, Chile y Brasil han trabajado sobre su importancia epidemiológica (Gaggero *et al.*, 1998; Giordano, Martinez, Isa, Paez Rearte, & Nates, 2004; P. A. Silva, Cardoso, & Schreier, 2006). De la misma forma, Colombia no tiene muchos estudios sobre los AstVs, sin embargo, Medina y colaboradores en 2000, reportaron un 5% de prevalencia en niños con gastroenteritis en Bogotá D.C., siendo más prevalente el serotipo 1 y cinco años después, Ulloa y colaboradores reportaron un 4% en el municipio de Facatativá (Ulloa *et al.*, 2005). La transmisión astrovirus tiene como principal ruta la fecal-oral. La contaminación de aguas, alimentos y superficies se produce a partir de la excreción de virus en las heces de pacientes contaminados. Los HAsTVs han sido detectados principalmente en niños menores de 5 años, sin embargo,

también pueden estar presentes tanto en pacientes inmunocomprometidos (Cunliffe *et al.*, 2002; González *et al.*, 1998; Esparza-Aguilar *et al.*, 2009; Liste *et al.*, 2000). De igual forma, se ha reportado la alta frecuencia de coinfecciones de astrovirus con otros patógenos, que se detectan a partir de 33% a 65% de las muestras positivas para astrovirus y a su vez hace que sea difícil evaluar el papel real y la significancia de la infección por HAstV (Gaggero *et al.*, 1998; Walter & Mitchell, 2000).

Debido a que la enfermedad gastrointestinal por AstV que produce en humanos es autolimitada y de corta duración, no se han desarrollado vacunas. No obstante, es necesario resaltar que existe la posibilidad de que los astrovirus no solo puedan producir gastroenteritis si no también otras patologías como es el caso de las aves que desarrollan hepatitis y nefritis fatal y adicionalmente enfermedades neurológicas, como ha sido observado en humanos, bovinos y visones (Blomström *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2013; Quan *et al.*, 2010 (Li 2013; Bouzalas 2014). Un último reporte habla de su posible papel como causante de temblor congénito en cerdos recién nacidos (Blomström, 2014).

20

Achyrocline bogotensis, llamada popularmente “cenizo”, “suso” o “vira-vira” es una hierba erecta de aproximadamente 1 metro de alta o semipostrada, bien ramificada, de tallos erectos pubescentes o lanuginosos, con tricomas blancos; hojas alternas, sésiles, linear-lanceoladas, agudas en el ápice y con la base angostada, enteras, con solo el nervio principal diferenciado, lanuginosas o densamente blanco-pubescentes por las dos caras, 2- 3,5 cm de largo, 1-6 mm de ancho; inflorescencia amarilla, en glomérulos laxos, pedunculados, dispuestos en el extremo de las ramas; cabezuelas heterógamas de 8 mm de largo, sésiles, con unas 18 flores; involucro cilíndrico; brácteas en varias series, imbricadas, escoriáceas, las exteriores gradualmente más cortas, glabras, amarillas; flores marginales femeninas con la

corola filiforme, glabra, 4 mm de largo; flores centrales hermafroditas, con la corola tubulosa y de unos 3 mm de largo; aquenios glabros, comprimidos, papo uniseriado, formado por pelos numerosos, largos). Esta especie se distribuye en los Departamentos de Boyacá,
5 Cundinamarca y Nariño (García-Barriga, 1975; Sánchez, 1985).

Achyrocline bogotensis ha tenido una variedad de usos tradicionales en Colombia para tratar enfermedades dérmicas, prostatitis, dolores renales, procesos inflamatorios, enfermedades urinarias y respiratorias
10 (Bernal *et al.*, 2011). Otros reportes sobre su actividad biológica describen capacidad antibacteriana contra *S. aureus*, *S. epidermidis* y *S. pyogenes*, capacidad antifúngica contra *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Candida* sp. y actividad frente a las micobacterias *M. avium*, *M. chelonae* y *M. fortuitum* (Cárdenas &
15 Sánchez, 1990; Rodríguez & Wolffhugel, 1999), antiinflamatoria (Correa & Bernal, 1990; Guerrero & Támara, 2005; Pombo, 2003), antioxidante, gastroprotectora y hepatoprotectora (Guerrero & Támara, 2005).

Comercialmente se ofrecen fitoterapéuticos de forma líquida, constituidos
20 por un extracto completo de la planta con solvente de base alcohólica, empleado como coadyuvante en el tratamiento de la inflamación leve de las vías urinarias. Estos fitoterapéuticos, en ninguno de los casos presentan un extracto de alguna fracción particular de la planta, sino que corresponden al macerado completo de la misma.

25 Estudios de toxicidad aguda realizados en la Universidad Nacional de Colombia determinaron que el extracto etanólico de *A. bogotensis* no produce signos clínicos asociados a su administración (Guerrero & Támara, 2005). De la misma forma estudios de toxicidad aguda no
30 mostraron signos clínicos de toxicidad ni alteración de la química sanguínea de ratas tratadas con el extracto hidroalcohólico (Pombo, 2003). Según Correa, 1990, el extracto de la planta está clasificado

dentro del grupo de baja toxicidad (Correa & Bernal, 1990).

Torrenegra y colaboradores en 1982, a partir de las flores secas y molidas de *Achyrocline bogotensis* aislaron tres flavonas metoxiladas sin
5 sustituyentes en el anillo B: 5-hidroxi-7,8-dimetoxiflavona; 5-hidroxi-3,7,8-trimetoxiflavona y 3,5-dihidroxi-6,7,8-trimetoxiflavona (Torrenegra *et al.*, 1982). Torrenegra, Escarria y Pedrozo (1984) realizaron un estudio quimiotaxonómico en varias especies de los géneros *Gnaphalium* y *Achyrocline*, y observaron que los flavonoides aislados de las diferentes
10 especies estudiadas son muy semejantes en ambos géneros y solo los terpenos, especialmente diterpenos, pueden ser utilizados como marcadores químicos. En este estudio los autores señalaron los siguientes compuestos químicos identificados en *Achyrocline bogotensis*: quercetina, javerianina, metil-gnaphalin, gnaphalin, 3,5-dihidroxi-6,7,8-
15 trimetoxi-flavona y β -sitosterol (Torrenegra, Escarria, & Pedrozo, 1984)

Llanos en 1986, estudió la química de *Achyrocline bogotensis* a partir de material seco y molido de hojas y flores y de extractos con éter de petróleo. Mediante ensayos fisicoquímicos, técnicas cromatográficas
20 y determinaciones espectroscópicas se evidenció la presencia en los extractos, principalmente de flavonoides. En una segunda extracción utilizando etanol del 45% y con técnicas iguales se detectó compuestos de tipo flavonoide y glicósidos de flavonoides. Los compuestos aislados por este autor fueron: a) El 3,5-dihidroxi-6,7,8-trimetoxiflavona
25 ($C_{18}H_{16}O_6$); b) la javerianina ($C_{17}H_{14}O_5$); c) la 3-metoxi-quercetina ($C_{16}H_{12}O_7$); d) La 4'-glicósido de quercetina ($C_{21}H_{20}O_{12}$); d) la luteolina ($C_{15}H_{10}O_6$); y e) la miricetina ($C_{15}H_{10}O_8$) (Llanos, 1986).

Recientemente, Thomas y colaboradores en el 2012 reportaron la
30 actividad antineoplásica de dos isómeros de flavonas: la 5,7-dihidroxi-3,6,8-trimetoxiflavona (flavona A) y la 3,5-dihidroxi-6,7,8-trimetoxiflavona (flavona B), obtenidas de *Gnaphalium elegans* y

Achyrocline bogotensis respectivamente, para lo cual realizaron cultivos celulares y ensayos de 3-(4,5- metil-tiazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazolio (MTT) y ensayo de túnel. Estos autores describieron los diferentes efectos citotóxicos de las dos flavonas sobre líneas celulares tumorales (MCF7, SK-BR-3, Caco-2, HCT116, MIA Paca, Panc 28, PC3 y LNCaP) que varían en el estado de diferenciación y potencial tumorigénico. Con la flavona B se observó que tiene acción citotóxica en carcinomas pobremente diferenciados de colon (HCT116), páncreas (MIA Paca) y mama (SK-BR3) (Thomas *et al.*, 2012).

10

Por otra parte, los compuestos identificados en la fracción hexano de la planta *Achyrocline bogotensis*, si bien son compuestos cuya estructura química individual ha sido previamente conocida, tal como el 5,7,8-trihydroxy-3,6-dimethoxyflavona, el n-ácido hexadecanoico, phytol, y estigmasterol, ninguno de ellos de manera aislada o en mezclas complejas, han sido relacionados con actividad específica contra rotavirus y contra astrovirus. Así mismo, tampoco son conocidas mezclas complejas y composiciones farmacéuticas que contengan estas mezclas, con los compuestos particulares y proporciones presentes en la fracción hexano de la planta *Achyrocline bogotensis*.

20

En el presente, el tratamiento de la EDA se enfoca en el reemplazo de líquidos con sales de rehidratación oral para prevenir la deshidratación y administración de zinc para disminuir la severidad y la duración. Esto quiere decir que a la fecha no existe un antiviral disponible para tratar la infección por ninguno de los agentes virales enteropatógenos mencionados.

25

Es por ello, que el objeto de la presente invención es la obtención de una fracción activa de *Achyrocline bogotensis* contra la infección y multiplicación de virus, esta fracción y la composición fitoterapéutica que la contenga pueden ser útiles como co-adyuvantes en el tratamiento de

30

la EDA y específicamente, en el control de la infección y multiplicación de los rotavirus y astrovirus una vez se ha realizado la exposición al virus.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

5

Es un primer objeto de la presente invención suministrar a una fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* obtenida por métodos fitoquímicos biodirigidos, marcada analíticamente y que presenta una potente actividad antiviral in vitro. Esta fracción bioactiva es caracterizada por los
10 compuestos específicos que presenta.

Es un segundo objeto de la invención, suministrar el proceso por el cual se obtiene dicha fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis*. Indicando como obtener la fracción bioactiva a partir del material vegetal hasta el
15 punto en que se tiene el compuesto activo con actividad antiviral.

Es un tercer objeto de la presente invención, proporcionar una composición fitoterapéutica para el tratamiento de infecciones de origen viral que contiene las sustancias de la fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* y al menos uno o más excipientes farmacéuticamente
20 aceptables.

Igualmente, es parte de la invención el uso de dicha fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* en la producción de terapéuticos para controlar la
25 infección por virus, especialmente infecciones por rotavirus y astrovirus.

Finalmente, la invención proporciona un método para ayudar en el tratamiento de enfermedades de origen viral que comprende la administración de una composición farmacéutica que contiene dicha
30 fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* y excipientes farmacéuticamente aceptables. Este método de tratamiento es

especialmente relevante para tratar la enfermedad diarreica aguda en animales y humanos.

LISTADO DE FIGURAS

5 **Figura 1.** Cromatografía en capa delgada de la fracción F1 (FE: Sílica gel, FM: CH₂Cl₂- MeOH 10:1). Luz ultravioleta onda larga (A). Luz ultravioleta onda corta (B). Revelada con vainillina (C).

10 **Figura 2.** Cromatograma de gases de la fracción F1 según la base de datos MSD Chem Station.

Figura 3. Cromatograma UHPLC-UV-MS- de la fracción F1; a) modo positivo de la fracción F1; b) modo negativo de la fracción F1.

15 **Figura 4.** Marcha Fitoquímica: Fraccionamiento líquido/líquido continuo de *A. bogotensis*.

20 **Figura 5.** Viabilidad de las líneas celulares MA104 (A) y Caco2 (B) en presencia de los extractos, fracciones y DMSO (C) por el método colorimétrico MTT (DO 492 nm). La tabla numérica debajo del eje X de las figuras A y B corresponde al % de viabilidad celular obtenido.

25 **Figura 6.** Inmunocitoquímica para valorar el bloqueo de la infección *in vitro* por RRV ejercido por la fracción F1 obtenida a partir de *A. bogotensis*.

Figura 7. Inmunocitoquímica para valorar el bloqueo de la infección *in vitro* por Yuc8 ejercido por la fracción F1 obtenida a partir de *A. bogotensis*.

30 **Figura 8.** Valoración del efecto virucida producido por la fracción F1 a concentraciones átoxicas co-incubadas con RRV (A) o Yuc8 (B).

Figura 9. Valoración del efecto virucida producido por la fracción F1 a concentraciones atóxicas co-incubadas 1 hora (A), 2 horas (B) y 4 horas (C) con **RRV** (MOI: 5). En la gráfica se especifican los valores de reducción de la infección (%). Las flechas indican los porcentajes más altos de reducción de la infectividad por RRV.

Figura N° 10. Valoración del efecto virucida producido por la fracción F1 a concentraciones atóxicas co-incubadas 1 hora (A), 2 horas (B) y 4 horas (C) con **Yuc8** (MOI: 2). En la gráfica se especifican los valores de reducción de la infección (%). Las flechas indican los porcentajes más altos de reducción de la infectividad por Yuc8.

Figura 11. Análisis estadístico del efecto virucida de la fracción F1 co-incubada 1 hora, 2 horas y 4 horas con **RRV** (A) y **Yuc8** (B). Los datos representan el porcentaje (%) de células infectadas $\pm$ error estándar de la media (EEM) de tres experimentos independientes.

* p =0.05 (ANOVA con medidas repetidas – MR).

Figura 12. Análisis estadístico del efecto virucida de la fracción F1 a concentraciones atóxicas co-incubadas 1 hora, 2 horas y 4 horas con **Yuc8**. Los datos representan el porcentaje (%) de células infectadas $\pm$ error estándar de la media (EEM) de tres experimentos independientes.

* p =0.05 (ANOVA con medidas repetidas – MR).

Figura 13. Análisis estadístico de la reducción de la producción de las partículas virales infecciosas de **RRV** (A) y **Yuc8** (B) ejercida por la fracción F1 a concentraciones atóxicas. Los datos las unidades formadoras de focos (UFF/ml) $\pm$ error estándar de la media (EEM) de tres experimentos independientes. * p =0.05 (ANOVA univariante).

Figura 14. Cromatografía bidimensional en sílica gel de la fracción Diclorometano del extracto hidroalcohólico corrida en el eje X con una fase móvil de Tolueno:Metanol (10:1) y en el eje Y con una fase móvil de Hexano:Diclorometano (8:2), revelada con luz ultravioleta 366 nm **(a)** y vainillina/H₂SO₄ **(b)**. P: fracción activa HMI-1, CQ: isómeros cafeoilquínicos, F: flavonoides.

Figura 15. Viabilidad (MTT) de la línea celular MA104 en presencia de una preparación fitoterapéutica obtenida con el extracto total de las partes aéreas de *A. bogotensis*. El extracto contiene los compuestos mayoritarios de la fracción bioactiva F1. La tabla numérica debajo del eje X de la figura corresponde al % de viabilidad celular obtenido.

Figura 16. Inmunocitoquímica de la actividad virucida de un producto fitoterapéutico piloto a escala de laboratorio (FTP), preparado con el extracto de las partes aéreas de *A. bogotensis* sobre la infección in-vitro por rotavirus (RRV). A) control negativo de infección; B) control positivo de infección con RRV a MOI: 0,1; C) efecto de la co-incubación de vehículo del FTP con RRV durante 2hr a 37°C con posterior infección durante 8hr; D) efecto de co-incubación de vehículo del FTP con RRV durante 2hr a 37°C con posterior infección durante 8 hr. Fotografías con objetivo 10X.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

- 5 Para facilitar la descripción de los componentes de la presente invención, se establecen las siguientes definiciones para los términos utilizados en la memoria descriptiva.

10 La expresión “**fracción bioactiva estandarizada**” es utilizada para denominar una fracción o mezcla compleja de principios activos específicos con actividad biológica obtenida a partir de *Achyrocline bogotensis*, por métodos de separación incluidos en la marcha fitoquímica particular que es divulgada en la invención. Estas mezclas complejas presentan una composición cualitativa y cuantitativa que puede variar
15 dependiendo de factores relacionados con la planta (condiciones climáticas de cultivo, suelos, condiciones de recolección y manipulación), por lo que la estandarización de fracciones con actividad biológica requiere de la implementación de buenas prácticas de agricultura en el cultivo y de manufactura a nivel de producción. Así, las guías
20 internacionales de OMS establecen como herramienta idónea para realizar el control de calidad y estandarización de las mezclas complejas, la cuantificación de uno o más compuestos marcadores de la fracción mediante un perfil o huella cromatográfica de los productos por medio de GC, HPLC, y HPTLC, que permiten la construcción de patrones
25 específicos de reconocimiento para múltiples compuestos en los productos [WHO Guidelines on Good Manufacturing Practices (GMP) for Herbal Medicines, 2007].

30 Este patrón brinda una fotografía completa de la proporción de los compuestos detectados en la preparación, la cual permite realizar una aproximación cualitativa y cuantitativa para autenticar las especies, evaluar la calidad y asegurar la estabilidad de las preparaciones (Peishan

Xie, 2006). El análisis de esta huella cromatográfica se realiza mediante HPLC, pruebas de química cualitativa, y espectrometría de masas.

5 La expresión “**fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* obtenida por metodologías fitoquímicas biodirigidas**” se entiende como un extracto semiprocado obtenido a partir de un proceso de fraccionamiento líquido/líquido continuo o cualquier otra técnica de fraccionamiento racional y dirigido, que se realiza a partir de partes aéreas
10 de la planta, utilizando pruebas biológicas como criterio para la tamización y selección de las fracciones, entendiendo ésta como un “producto sintetizado” de acuerdo con la Decisión Andina 391 del Régimen común sobre Acceso a los Recursos genéticos de la Comisión del Acuerdo de Cartagena.

15

Esta definición se cumple, teniendo en cuenta que la fracción obtenida es una mezcla compleja y específica de compuestos, que difiere de los compuestos y elementos que tiene la planta o el extracto completo de la misma en su forma natural. Lo anterior, dado que la fracción activa aquí
20 obtenida no contiene elementos presentes en dicho extracto natural como son las flavonas de tipo 5,7-dihidroxi-3,6,8-trimetoxiflavona (flavona A) y la 3,5- dihidroxi-6,7,8-trimetoxiflavona (flavona B), la quercentina, javerianina y otros compuestos presentes en proporción mayoritaria en el material biológico natural. En cambio, la fracción bioactiva de *Achyrocline*
25 *bogotensis* contiene unos compuestos particulares, combinados en una mezcla, que solo pueden ser obtenidos por el proceso aquí revelado.

La expresión “**fracción bioactiva marcada analíticamente**” hace referencia a una fracción bioactiva en la cual sus componentes han sido
30 cuantificados a partir de la utilización de compuestos marcadores internos o externos por medio de una o más técnicas cromatográficas.

La expresión “**solubilización del extracto**” se podrá usar para referirse a una técnica de separación de fracciones o compuestos, tal como la técnica de Fraccionamiento líquido/líquido continuo o cualquier técnica que permita la separación de compuestos de acuerdo a su carácter físico-químico.

La expresión “**cantidad terapéuticamente efectiva**” se entiende como el nivel de dosificación suficiente de los principios activos o fracciones de la invención, necesarios para inducir un efecto biológico deseado en el tratamiento de la enfermedad dentro de un balance riesgo/beneficio aceptable a cualquier tratamiento médico.

La expresión “**terapéutico**” incluye el tratamiento o profilaxis de una enfermedad para un mamífero incluyendo el hombre.

La presente invención proporciona entonces, una fracción biológicamente activa obtenida a partir de *Achyrocline bogotensis*, una metodología específica para obtener dicha fracción activa, de la que se obtienen varios extractos y fracciones para su separación secuencial y donde la fracción de interés se ha denominado como **fracción F1**.

Obtención de extracto y fracción de interés

Amparados con el “*Contrato de Acceso a Recursos Genéticos para investigación científica sin interés comercial No. 084*” otorgado por el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, se obtuvieron extractos y fracciones a partir de las hojas y tallos de *A. bogotensis* empleando el siguiente proceso:

- a) Separar la fracción con los componentes químicos de la superficie foliar del material vegetal fresco de *Achyrocline*

bogotensis mediante lavado con un solvente orgánico clorado de constante dieléctrica 4.8.

5 b) Desengrasar el material vegetal seco de *Achyrocline bogotensis* por maceración en frío con solvente orgánico del tipo hidrocarburo alifático de constante dieléctrica 2.0.

10 c) Macerar el material desengrasado obtenido en la etapa b) con solvente de alta polaridad etanol y/o metanol.

 d) El extracto obtenido en la etapa c) se fracciona con un solvente de tipo hidrocarburo alifático con una constante dieléctrica 2.0.

15 e) Concentrar la fracción obtenida en d).

 f) Disolver en solvente orgánico polar aprótico de constante dieléctrica 4.7.

20 El material vegetal inicial fresco se lava con un solvente de mediana polaridad (constantes dieléctricas entre 4.5 y 4.8), tal como cloroformo, con el fin de separar los compuestos químicos presentes en la superficie foliar, extracto denominado E1. El material vegetal marco I, se seca y fragmenta al tamaño requerido.

25 El material vegetal marco I de la etapa a) es desengrasado por maceración con un solvente de baja polaridad, en frío, tal como por ejemplo el hexano, (extracto E2). Posteriormente, el material vegetal marco II obtenido en la etapa anterior, se coloca en un solvente de mayor polaridad, tal como etanol. El extracto obtenido denominado E3 en la
30 etapa c) es concentrado, con los métodos tradicionales tal como diafiltración o rotaevaporación o métodos equivalentes.

Posteriormente, se solubiliza el concentrado del extracto E3 en etanol/H₂O (9:1 v/v) para un posterior fraccionamiento líquido-líquido continuo con el solvente hidrocarburo alifático como el hexano (F1), esta fracción se concentra con los métodos usuales y es mantenida en condiciones de estabilidad fisicoquímica y esterilidad microbiológica. La fracción se disuelve en un solvente polar aprótico, preferiblemente dimetilsulfóxido para su evaluación biológica.

Caracterización química de la fracción bioactiva F1

10

La fracción bioactiva F1, que exhibe una actividad antiviral *in vitro* contra rotavirus y astrovirus, cepas RRV y Yuc8 respectivamente, es caracterizada mediante técnicas cromatográficas y espectroscópicas. La fracción se sometió a un monitoreo de las sustancias presentes, por medio de cromatografía en capa fina. Para ello, se utilizó placas con sílica gel como fase estacionaria y CH₂Cl₂-MeOH(10:1) como fase móvil. Una vez reveladas las cromatografías con vainillina se determinaron los R_f de cada sustancia detectada.

20 Como se puede observar en la figura 1 la fracción fue monitoreada mediante cromatografía en capa delgada (CCD) (F.E.: Sílica Gel, F.M.: CH₂Cl₂:MeOH) y observadas con luz ultravioleta (UV). La vainillina fue empleada como revelador. Los R_f fácilmente detectados en la fracción F1 fueron 0,78, 0,87 y 0,98.

25

Este estudio cromatográfico fue complementado con pruebas químicas cualitativas donde se evidencia la presencia de esteroides y esteroides, terpenos, fenoles, flavonoides y lactonas, tal como se observa en la tabla:

30

Prueba	Metabolitos secundarios	Fracción F1
<i>Lieberman-Burchard</i>	Esteroides y esteroides	Positiva
<i>Molibdato de amonio</i>	Diterpenos	Positiva
<i>Cloruro férrico</i>	Fenoles	Positiva
<i>Dragendorff</i>	Alcaloides	Negativa
<i>Börntager</i>	Antraquinonas	Negativo
<i>Shinoda</i>	Flavonoides y fenoles	Positiva
<i>Salkowski</i>	Terpenos	Positiva
<i>Baljet</i>	Sesquiterpelaetonas	Positiva
<i>Molish</i>	Glucósidos	Positiva
<i>Índice de espuma</i>	Saponinas	Negativa

Con base en estos resultados se realizó la cuantificación de fenoles totales y flavonoides de la fracción bioactiva F1 por espectrofotometría de absorción UV-VIS, con los estándares ácido gálico para fenoles totales y quercetina para flavonoides, mostraron un contenido de fenoles
5 totales y quercetina para flavonoides, mostraron un contenido de fenoles (22,81 ± 1,7 mg GAE/g) y flavonoides (2,13 ± 0,05 mg QE/g).

Con el fin de identificar los posibles componentes responsables de la actividad antiviral, se realizó una cromatografía de gases acoplada a
10 espectrometría de masas. Esta se llevó a cabo en un equipo *Agilent Technologies* 6850 series II, acoplado a un detector selectivo de masas *Agilent Technologies* MSD 5975B, equipado con un puerto de inyección *split/splitless* (260°C, relación de *split* 15:1), y un inyector automático *Agilent* 6850 series. Se utilizó una columna capilar de sílice fundida: TR-
15 50MS de 30m x 0,25mm (d.i.) x 0,25mm (df), con fase estacionaria 50% fenil polisilfenilenesiloxano. La identificación de los componentes presentes en la fracción activa se realizó sobre la base de la comparación de espectros de masas adquiridos, confrontados con los reportados en las bases de datos Willey 7 y *Agilent* NIST 05a.

20

En la figura 2 se presentan los compuestos mayoritarios identificados en el cromatograma GC-MS realizado a la fracción F1. En la mezcla se pudo

identificar mediante las bases de datos con un porcentaje de coincidencia superior al 90%, el componente mayoritario corresponde al flavonoide 5-hidroxi-7,8-dimetoxiflavona, además de los picos correspondientes a esteres etilo derivados de los ácidos grasos: palmítico, linoleico, linolenoico, esteárico, araquidico, mirístico y margárico, con sus ácidos grasos correspondientes, se identificaron también los compuestos fitol y los esteroides: 22,23-dihidro-Estigmasterol, Estigmasterol y Estigmast-4-en-3-ona.

T.R. (min)	Área%	Compuestos identificados	% de coincidencia
21,21	9,89	5-hidroxi-7,8-dimetoxiflavona	90
14,92	8,64	Palmitato de etilo	99
14,729	8,13	Ácido palmítico	99
13,44	4,05	6,10,14-trimetil-2-pentadecanona	96
25,20	2,58	22,23-dihidroestigmasterol	98
16,090	2,43	fitol	90
16,47	1,9	linoleato de etilo	99
24,822	1,72	Estigmasterol	99
26,02	1,38	Estigmast-4-en-3-ona	91

10

Para obtener un registro de la huella cromatografica de los compuestos no volátiles de la fracción F1 se obtuvo mediante la técnica UHPLC-UV-MS (Exactive PlusTM, Thermo Fisher Scientific, Alemania) equipado con analizador tipo Orbitrap, fuente de ionización por Heated Electrospray (HESI), utilizando una columna C₁₈ (Hypersil Gold, 50 x 2,1 mm, Thermo Fisher Scientific, Alemania) con un tamaño de partícula de 1,9 µm y una precolumna C18 para UPLC (Phenomenex, EUA). Fase móvil acetonitrilo (MeCN): H₂O con adición de ácido fórmico al 0,1%, con un gradiente de 5% de MeCN en 3 min, 5% a 100% de MeCN en 30 min seguido de 100% de MeCN durante 35 min. La temperatura de la columna se controló a 30°C.

El espectrómetro de masas fue operado en modos positivo y negativo al mismo tiempo en una resolución 70000 y exploración rango 150-2000 m/z. Un volumen de 10 µL de cada extracto se inyectó un tiempo máximo

de inyección de 250 ms. Los parámetros de la fuente de ionización para HESI fueron: tensión de pulverización 3,6 kV en el modo positivo y negativo kV modo de -3,2, la temperatura capilar y 300 ° C calentador, flujo de nitrógeno (gas vaina) 30 S-unidades y niveles de radiofrecuencia
5 lente 55.

La fracción activa F1 se disuelve en MeCN:H₂O 1:1 con un posterior fraccionamiento con hexano para retirar las grasas y pigmentos.

Se obtuvo el cromatograma de la figura 3, que confirma el compuesto
10 mayoritario detectado en CG-MS el flavonoide 5-hidroxi-7,8-dimetoxiflavona (TR = 20.09, [M+H⁺]= 299.09 C₁₇H₁₄O₅), y el 5,7-dihidroxi-3,8-dimetoxiflavona (TR = 20.09, [M+H⁺]= 313.0715 [M-H] C₁₇H₁₄O₆ -) junto con el flavonoide y los isómeros de ácidos
15 dicafeoilquínicos identificados por coinyección con **estándares** y fragmentación en el espectro de masas MS2, Ácido 3,4-dicafeoilquínico (TR: 10. 81, m/z 515.119, C₂₅H₂₃O₁₂).

Evaluación de la citotoxicidad de los extractos y la fracción obtenida

20 Por los métodos de MTT y exclusión de colorante azul tripán se pudo observar que a partir de concentraciones mayores de **15,6 µg/ml (F1)**, para las células **MA104**, y **7,81 µg/ml (F1)**, para las células **Caco2**, empiezan a sufrir cambios metabólicos deletéreos y estructurales en su membrana plasmática, respectivamente. Estos valores dejan ver que la
25 fracción bioactiva F1 no es la más citotóxica entre los extractos y fracciones obtenidos de *A. bogotensis*. Asimismo, se muestra que para evaluar la toxicidad se debe tener en cuenta el valor aportado por el solvente en el que se mantiene la fracción, para el caso la toxicidad ejercida sobre las dos líneas celulares por el reactivo DMSO, utilizado
30 para solubilizar las sustancias obtenidas mostró que a concentraciones menores de 0.5% permite conservar la viabilidad celular por encima de un 96% durante las 96 horas de exposición.

Actividad antiviral de la fracción bioactiva F1

Se probó la actividad antiviral de los diferentes extractos y fracciones
5 obtenidas de *A. bogotensis*. Se dio especial importancia a averiguar si
alguno de los extractos o fracciones a concentraciones no tóxicas
ejerce una actividad antiviral contra rotavirus y/o astrovirus, mediante la
valoración de tres estrategias virológicas determinadas por la posible
capacidad de bloqueo, actividad virucida y/o la capacidad de reducir la
10 cantidad de partículas infecciosas producidas durante el ciclo replicativo
viral post-infección. Los ensayos muestran que aunque la fracción no
logra bloquear la infección viral, es decir, no evita que el virus entre a las
células, si tiene una actividad virucida relevante, efectiva a diferentes
concentraciones sobre rotavirus y astrovirus. Además, la fracción F1 tiene
15 actividad antiviral cuando es adicionada inmediatamente después de la
adsorción (infección) viral, determinada por la reducción de partículas
virales infecciosas producidas tras el ciclo replicativo viral. La actividad
anti-rotavirus y anti-astrovirus se ve potenciada con el acompañamiento
de DMSO.

20 La actividad anti-rotavirus y anti-astrovirus obtenida con la mezcla
compleja de compuestos presentes en la fracción F1, no había sido
reportada previamente para los compuestos químicos mayoritarios 5-
hydroxy-7,8-dimethoxyflavone y 5,7,8-trihydroxy-3,6-dimethoxyflavone que
25 hacen parte de la fracción, ni tampoco para mezclas de estos
compuestos.

Composiciones farmacéuticas que contienen la fracción bioactiva

30 La fracción bioactiva de la invención puede ser formulada como
composiciones con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables,
dichas composiciones pueden ser especialmente diseñadas para

administración oral en formas farmacéuticamente sólidas o líquidas, para administración tópica en formas heterodispersas (cremas W/O, cremas O/W, geles y ungüentos entre otros) y para administración parenteral o rectal. Las composiciones de la invención pueden ser administradas a
5 humanos y otros mamíferos oralmente.

Las composiciones para administración oral que son una modalidad preferida de la invención, pueden incluir cualquier forma oral usada convencionalmente, tales como: tabletas, cápsulas, formas bucales y
10 líquidos orales, suspensiones o soluciones. Las cápsulas pueden contener mezclas de los agentes activos con excipientes inertes y/o diluyentes tales como almidones farmacéuticamente aceptables (ej. maíz, papa o almidón), azúcares, agentes endulzantes artificiales, celulosas en polvo (CMC, MC, EC, HPMC), harinas, gelatinas y gomas entre otros.

15 Las composiciones en tabletas pueden elaborarse por métodos de compresión convencional, granulación húmeda o granulación seca y pueden utilizarse excipientes tales como diluyentes, lubricantes, desintegrantes, agentes de modificación de superficie (incluyendo
20 surfactantes), agentes de suspensión o estabilización, incluyendo pero no limitado al: estearato de magnesio, ácido esteárico, talco, laurilsulfato de sodio, celulosa microcristalina, carboximetilcelulosa, polivinilpirrolidona, gelatina, ácido alginico, goma acacia, citrato de sodio, almidones secos y
25 composiciones orales reveladas en la invención pueden se formulaciones convencionales o formulaciones de liberación retardada o controlada que alteran la absorción de los ingredientes activos.

Método de tratamiento con una cantidad terapéutica de la fracción bioactiva

La invención incluye un método de tratamiento que se aplica a mamíferos, incluido el humano, que comprende la administración de al menos una composición farmacéutica que contiene la fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* en un intervalo de tiempo entre 8 horas y una semana. Opcionalmente, el método de tratamiento comprende la administración simultánea o secuencial de una composición farmacéutica de *Achyrocline bogotensis* y sales de zinc convencionales para el tratamiento de la enfermedad diarreica aguda.

Los niveles de dosificación de la composición farmacéutica que contiene la fracción bioactiva proporcionada por la invención pueden variar para obtener la cantidad de principio activo requerida para alcanzar la respuesta terapéutica deseada dependiendo de la especie objeto de tratamiento, las condiciones fisiológicas y patológicas del sujeto, la composición y la ruta de administración. Los niveles de dosificación dependen específicamente de la potencia particular de la fracción y la ruta de administración y la severidad de la infección.

Los siguientes ejemplos ilustran modalidades preferidas para llevar a cabo la invención pero no la limitan a los desarrollos indicados.

EJEMPLOS

Ejemplo 1. Marcha fitoquímica 1. Para la obtención de fracción F1 bioactiva.

El material fresco se sometió a lavados sucesivos con cloroformo y se obtuvo el extracto E1 (extracto con compuestos de baja y media polaridad presentes en la superficie foliar). Posteriormente, este material vegetal

marco I, se secó a temperatura ambiente y se molió. El marco I se maceró en frío con hexano y se obtuvo el extracto E2 (extracto con compuestos de baja polaridad: grasas y pigmentos) y el material vegetal desengrado denominado marco II. El marco II se extrajo por maceración
5 en frío con etanol (EtOH), extracto etanólico (E3). Todos los extractos se concentraron a presión reducida en rotaevaporador a 40°C.

Al extracto etanólico (E3):H₂O (9:1) se le realizó fraccionamiento líquido/líquido continuo con de hexano (C₆H₁₄) para obtener la fracción
10 F1, diclorometano (CH₂Cl₂) para obtener la fracción F2 y de acetato de etilo (AcOEt) para obtener la fracción F3. Estas fracciones se llevaron a rotaevaporador para concentrarlos a sequedad (Figura 4). Los ensayos de actividad biológica se realizaron con los extractos (E1, E2 y E3) y las fracciones (F1, F2 y F3) los cuales se disolvieron en dimetilsulfóxido
15 (DMSO-Merck) para obtener soluciones stock a concentración de 100 mg/ml y a partir de ésta, se prepararon diluciones 1/2 desde 1000 µg/ml hasta 0 µg/ml de cada extracto y fracción en Advanced-DMEM suplementado con L-Glutamina 2mM y antibiótico/antimicótico.

20

Ejemplo 2. Marcha fitoquímica 2. Para la obtención de fracción bioactiva F1.

El material fresco se sometió a lavados sucesivos con cloroformo y se
25 obtuvo el extracto E1 (extracto con compuestos de baja y media polaridad presentes en la superficie foliar). Posteriormente, este material vegetal marco I se secó a temperatura ambiente y se molió. Este material se maceró en frío con una mezcla hidroalcohólica (Etanol: H₂O al 70% v/v) y se obtuvo el extracto hidroalcohólico EHA-2 el cual fue concentrado por
30 rotaevaporación y posterior secado por liofilización. El extracto hidroalcohólico se fraccionó por cromatografía líquida al vacío con fase estacionaria sílica gel y fases móviles hexano, diclorometano, acetato de etilo. Demostrándose cualitativamente por cromatografía en capa fina

bidimensional que la fracción diclorometano del extracto hidroalcohólico presenta los compuestos bioactivos presentes en la fracción F1: entre ellos los isómeros cafeoilquinicos, flavonoides y esteroides.

5 Ejemplo 3. Citotoxicidad ejercida por los extractos y fracciones obtenidos a partir de *Achyrocline bogotensis* sobre las líneas celulares MA104 y Caco2 durante 96 horas.

Se determinó el efecto citotóxico de los extractos y las fracciones
10 obtenidas sobre las líneas celulares susceptibles de infección MA104 y Caco2 respectivamente y asimismo del solvente utilizado para preparar la solución primaria de trabajo (solución stock: concentración final de 100mg/ml en DMSO puro) durante 96 horas. Dos pruebas fueron tenidas en cuenta fundamentadas en la actividad metabólica e integridad
15 estructural de la membrana celular.

Para esto, se sembraron células MA104 (10.000 células sembradas inicialmente por pozo) y células Caco2 (15.000 células sembradas inicialmente por pozo) en placas de 96 pozos y a una confluencia del 90
20 – 100%, se agregaron sobre las mismas, 100 µl de las diferentes concentraciones (diluciones 1/2) de los extractos y fracciones desde 1.000 µg/ml hasta a 0 µg/ml, preparadas previamente en Advanced DMEM suplementado - sin SFB o del solvente DMSO a concentraciones iguales a las presentes en cada dilución de los extractos o fracciones (0
25 – 5 %). Las placas fueron incubadas a 37°C en atmósfera húmeda al 5% de CO₂ durante 96 horas. Al cabo de este tiempo, a las monocapas celulares se les agregó 30 µl de MTT (Sal de tetrazolio, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA, Cat. No. M2128), preparado a una concentración de 1 mg/ml en PBS y se incubaron nuevamente a 37°C por 4 horas. Al
30 terminar el tiempo de incubación, se retiró el MTT y se agregaron 100 µl de DMSO (Merck, Cat. No. 317275) para solubilizar los cristales de formazán y se agitaron las microplacas en un agitador a 60 rpm

aproximadamente, durante 15 minutos a temperatura ambiente. Por último, se cuantificaron las densidades ópticas (DO492nm,) en un espectrofotómetro (Labsystems Multiskan MCC/340). Células sin ningún tratamiento fueron incluidas en cada ensayo. En total se realizaron tres
5 ensayos independientes por triplicado para cada línea celular.

El porcentaje de la viabilidad celular se obtuvo aplicando la siguiente fórmula:

$$10 \quad \% \text{ Viabilidad} = \left[\frac{\text{DO células tratadas con extractos y fracciones}}{\text{DO células no tratadas}} \right] \times 100$$

Asimismo, para determinar el efecto de los extractos, fracciones y DMSO sobre la integridad morfológica y estructural de las líneas celulares, se
15 llevó a cabo la prueba de exclusión de azul tripán, realizando igualmente tres ensayos independientes por triplicado cada uno. Así, después de 96 horas de incubación de las células en presencia de los extractos y fracciones, se agregaron a cada pozo 50 µl de azul tripán (0.4% en PBS estéril pH= 7.2), se retiraron inmediatamente y se
20 observaron tres campos aleatorios por pozo a una magnificación de 10X en microscopio invertido de campo claro (Olympus CKX41) y se tomaron registros fotográficos.

Finalmente, se compararon los dos métodos con el ánimo de establecer
25 las concentraciones atóxicas de las sustancias obtenidas y del solvente en el cual se prepararon los stocks de las mismas

Diferentes concentraciones de extractos (E1, E2 y E3) y fracciones (F1, F2 y F3) obtenidos del fraccionamiento líquido/líquido del material
30 vegetal aéreo de *Achyrocline bogotensis*, fueron evaluados para determinar el efecto tóxico sobre las células MA104 y Caco2, por medio del método colorimétrico MTT y el método de exclusión con azul tripán.

Los resultados obtenidos con ambos métodos fueron consistentes y correlacionables, ya que se observó que las células que conservaron la integridad morfológica y estructural de la membrana plasmática, también presentaron altos porcentajes de viabilidad celular, correspondientes a la conservación de los procesos homeostáticos y metabólicos celulares. Por el contrario las células que mostraron daño y pérdida en la morfología de la membrana plasmática y por ende internalizaron del azul tripán, mostraron igualmente bajos porcentajes de viabilidad celular por el método de MTT. La concentración máxima atóxica de cada extracto y fracción fue determinada. En la figura 5 se muestran los porcentajes de viabilidad celular de la línea MA104 (A) y la línea Caco2 (B) obtenidos con el método colorimétrico de MTT. Se determinó que las sustancias más tóxicas estaban contenidas en E1 y F3. Adicionalmente, la toxicidad ejercida sobre las dos líneas celulares por el reactivo DMSO, utilizado para solubilizar las sustancias obtenidas (C) mostró que a concentraciones menores de 0.5% permite conservar la viabilidad celular por encima de un 96% durante las 96 horas de exposición. Asimismo se observó que concentraciones mayores del 0.5% de DMSO, ejercieron un efecto más tóxico sobre la línea celular MA104 en comparación con la línea celular Caco2.

Por el método exclusión de colorante azul tripán se pudo observar que a partir de concentraciones mayores de 3,91 µg/ml (E1), 7,81 µg/ml (E2), 31,2 µg/ml (E3), **15,6 µg/ml (F1)**, 3,91 µg/ml (F2) y 15,6 µg/ml (F3) para las células **MA104**, y 1,95 µg/ml (E1), 7,81 µg/ml (E2), 15,6 µg/ml (E3), **7,81 µg/ml (F1)**, 3,91 µg/ml (F2) y 15,6 µg/ml (F3) para las células **Caco2**, empiezan a sufrir cambios estructurales en su membrana plasmática, permitiendo la entrada del colorante a su citoplasma. Como se mencionó, los resultados obtenidos por el método de MTT se correlacionaron con los resultados obtenidos por el método de exclusión de azul tripán.

Ejemplo 4. Virus y líneas celulares empleadas para probar actividad antiviral

- Se usaron dos cepas virales: una de rotavirus cepa RRV (Rhesus Rotavirus), amablemente donada por el Doctor Carlos Arturo Guerrero (Laboratorio de Biología Molecular de virus, Unidad de Bioquímica. Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá) y una de astrovirus humano serotipo 8, HAstV8 cepa Yuc8, la cual fue donada por el Doctor Ernesto Méndez Salinas[†] (Laboratorio de Virología, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México). Estas cepas virales son dependientes de tripsina para aumentar su infectividad a una concentración de 10 µg/ml para RRV y 200 µg/ml para Yuc8.
- Las líneas celulares susceptibles de infección por las cepas virales mencionadas son respectivamente **MA104** que provienen de riñón de mono verde africano y **Caco2** que provienen de un adenocarcinoma de colon humano. Las dos líneas fueron mantenidas en medio de cultivo Advanced-DMEM (Gibco, Invitrogen Corporation Cat. No. 12491-015), suplementado con 4% (Ma104) o 5% (Caco2) de suero fetal bovino (SFB, Gibco, Invitrogen Corporation Cat. No. 16000-044), 2mM de L-Glutamina, antibiótico-antimicótico (Gibco, Invitrogen Corporation Cat. No. 15240-062) en atmósfera húmeda con 5% de CO₂ a 37°C.
- Para la obtención de virus para los experimentos, suspensiones virales de cada cepa fueron previamente activados con tripsina por 1h 37°C la cual fue luego inactivada con inhibidor de tripsina de soya (Gibco, Invitrogen Corporation Cat. No. R-007-100). Cada inóculo viral se adicionó respectivamente a células confluentes, previamente lavadas una vez con PBS (Phosphate Buffer Saline) y se dejaron adsorber los virus por 1 hora a 37°C. Pasado este tiempo se retiró el inóculo, se lavaron las células una vez con PBS y se adicionó medio de cultivo

Advanced-DMEM suplementado – sin SFB. Las células infectadas se incubaron en atmósfera húmeda con 5% de CO₂ a 37°C durante 24 horas y finalmente los virus fueron cosechados realizando dos ciclos de congelamiento-descongelamiento almacenando alícuotas de 1ml a -70°C hasta su uso.

Ejemplo 5. Evaluación del bloqueo de la infección *in vitro* ejercido por las sustancias vegetales obtenidas.

10 Sobre cada una de las líneas celulares, previamente cultivadas (10.000 células MA104 y 15.000 células Caco2, sembradas inicialmente por pozo) en placas de 96 pozos hasta una confluencia aproximada del 90%, fueron colocadas varias concentraciones atóxicas (diluidas 1:2 desde la máxima concentración atóxica hasta 0µg/ml) de
15 cada uno de los extractos y fracciones obtenidas, diluidas en Advanced-DMEM suplementado sin SFB e incubadas 24 horas a 37°C en atmosfera húmeda al 5% de CO₂. Al cabo de este tiempo, las sustancias fueron retiradas y las células lavadas una vez con 100 µL de PBS y luego fueron infectadas con RRV o Yuc8 a una multiplicidad de
20 infección de 1 (MOI:1) previamente activados con tripsina. Después del periodo de adsorción del virus, el inóculo viral fue retirado, las células lavadas nuevamente con PBS y se agregó DMEM suplementado sin SFB. A las 10 y 12 horas post-infección de RRV y Yuc8 respectivamente, las células fueron procesadas para detectar los antígenos virales
25 intracelulares por la técnica de inmunocitoquímica. Para estos ensayos se incluyeron además células infectadas sin tratamientos, células no infectadas (MOCK) y controles de células con DMSO a las mismas concentraciones finales contenidas en cada uno de los extractos y fracciones evaluados. Todos los experimentos se realizaron por triplicado
30 tres veces independientemente.

En la primera estrategia evaluada, los resultados mostraron por la técnica de inmunocitoquímica que ninguna de las sustancias obtenidas mostró de forma cualitativa ejercer un bloqueo de la infectividad viral. En la figura 6 y 7 se muestran imágenes representativas de la actividad de F1 sobre la infección por RRV y Yuc8, respectivamente.

Ejemplo 6. Valoración de la actividad virucida ejercida por los extractos y fracciones obtenidos contra las partículas de rotavirus y astrovirus.

10

Los extractos y fracciones preparados a las mismas concentraciones valoradas en la estrategia anterior fueron co-incubados por 1 hora con partículas infecciosas de RRV y Yuc8 a una MOI: 1, previamente activadas con tripsina. Solo la **fracción F1** mostró por inmunocitoquímica un efecto virucida sobre las partículas de rotavirus y astrovirus, manifestado por la reducción de células infectadas. La figura 8 muestra el efecto observado con RRV y Yuc8 co-incubados 1 hora con la fracción F1 sobre células MA104 y Caco2, respectivamente. Al mismo tiempo e inesperadamente, se observó que las bajas concentraciones presentes de DMSO (<0,016%) en las diferentes diluciones de la fracción evaluada, ejercen un efecto similar contra los dos, observándose una mayor actividad contra RRV (Figura 8).

Con estos resultados cualitativos por ICQ, se realiza citometría de flujo para cuantificar el efecto observado de actividad antiviral atribuible a la **fracción F1** y/o por efecto del solvente empleado.

Los resultados confirmaron el efecto virucida ejercido por la fracción F1 a diferentes concentraciones (0,98 – 15,6 µg/ml) co-incubadas con RRV y Yuc8, y además, se determinó que la concentración de 3,91 µg/ml tuvo una mayor reproducibilidad y homogeneidad experimental y asimismo el mayor efecto virucida. Esta concentración co-incubada por

1, 2 y 4 horas con RRV, reduce su infectividad en un 33,6%, 30,5% y 41,8%, respectivamente. Yuc8 co-incubado con la fracción F1 a esta misma concentración por 1, 2 y 4 horas, redujo su infectividad en un 33%, 24,4% y 46%, respectivamente (Figura 9 y 10).

5

El análisis estadístico del efecto virucida de la fracción F1 co-incubada a los 3 tiempos con **RRV** realizado con ANOVA de medidas repetidas con una probabilidad de error del 0.05 ($p < 0.05$), reveló la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los tiempos evaluados, confirmando que a tiempos prolongados de exposición de las partículas virales a la fracción F1, se logra un efecto virucida mayor. Asimismo, se comprobó que entre la fracción F1 y el DMSO también existen diferencias estadísticamente significativas, que confirman que la fracción F1 posee un mayor efecto virucida sobre RRV, además el efecto es tiempo-dependiente (Figura 11A). Con respecto al análisis estadístico realizado al efecto virucida de la fracción F1 co-incubada 1, 2 y 4 horas con **Yuc8** (Figura 11B), se confirmó que existen diferencias estadísticamente significativas entre los tiempos evaluados, la fracción F1 y el DMSO (efecto similar dado en RRV) y adicionalmente, se reveló que las interacciones de las variables tiempo – concentración y tiempo – tipo de sustancia (F1 y DMSO) tienen diferencias estadísticamente significativas confirmando que al exponer el virus por determinados tiempos a la fracción a diferentes concentraciones, el efecto dado es tiempo – dosis dependiente sobre Yuc8 (Figura 12), y a su vez el efecto DMSO es significativamente menor que el efecto virucida de la fracción F1.

Los datos obtenidos por FACS (Citometría de flujo) fueron normalizados de la siguiente manera para conocer el porcentaje de reducción de la infectividad viral por rotavirus (RRV) y astrovirus (Yuc8):

$$\% \text{ células infectadas} = \left[\frac{\% \text{ de células infectadas con (RRV / Yuc8 + fracción F1)}}{\% \text{ de células infectadas con RRV / Yuc8}} \right] \times 100$$

Ejemplo 7. Valoración de la reducción de la producción de las partículas virales infecciosas ejercida por la fracción F1

5

La tercera estrategia evaluada fue dirigida a conocer si las sustancias obtenidas ejercen una actividad antiviral contra rotavirus y/o astrovirus mediante la reducción de la progenie viral infecciosa. Para esto se trataron células infectadas (MOI: 1) con las diferentes concentraciones de la fracción F1 y la cantidad de partículas infecciosas producidas para los dos virus estudiados fue cuantificada por inmunocitoquímica para obtener el número de unidades formadoras de focos infecciosos por mililitro (UFF/ml), tanto para rotavirus como para astrovirus. Los resultados demostraron nuevamente que la fracción F1 tiene actividad antiviral contra los dos virus evaluados cuando es adicionada inmediatamente después de la adsorción viral, determinada por la reducción de partículas virales infecciosas producidas tras el ciclo replicativo viral.

20 En este caso, el análisis realizado con ANOVA univariante con una probabilidad de error del 0.05 ($p < 0.05$) reveló que existen diferencias estadísticamente significativas entre las sustancias evaluadas (Fracción F1 y DMSO) sobre **RRV** y **Yuc8**, confirmando que la disminución de la producción de partículas virales fue mayor cuando se trataron las células infectadas con la fracción F1 y a su vez, hubo diferencias estadísticamente significativas entre las diferentes concentraciones evaluadas de F1 sobre las células infectadas con **RRV** (Figura 13).

Adicionalmente, se pudo observar un efecto estimulante del DMSO sobre el rendimiento de la producción de **Yuc8**, aunque los resultados no

revelan un efecto estadísticamente significativo entre las concentraciones evaluadas de DMSO sobre este virus, caso contrario sucedió con el DMSO y **RRV**, en el cual se observó que el solvente disminuye la cantidad de partículas infecciosas producidas.

5

Ejemplo 8. Evaluación de la citotoxicidad de un fitoterapéutico piloto desarrollado a escala de laboratorio, hecho con el extracto total de las partes aéreas de *A. bogotensis*.

- 10 A fin de saber la toxicidad *in vitro* que puede ejercer una forma farmacéutica aceptable para uso en humanos y animales, tipo composición líquida en gotas, se elaboró un fitoterapéutico a escala piloto en laboratorio con el extracto hidroalcohólico total de las partes aéreas de *A. bogotensis* y excipientes que consistieron de una solución glucosada
- 15 con un conservante clásicamente usado en industria farmacéutica. La concentración final de extracto en sequedad total (libre de alcohol) fue de 1g/ml. Es bien conocido que los productos fitoterapéuticos son fabricados preferiblemente con el extracto total de la planta y con un contenido de alcohol, sin embargo teniendo la premisa de que una preparación libre de
- 20 alcohol junto con excipientes aceptables, a una concentración adecuada de administración, conservará las propiedades antivirales, siempre y cuando tenga disponibles los compuestos mayoritarios de la fracción bioactiva F1, aspecto que se comprobó cualitativamente a través de cromatografía bidimensional (Figura 14) en la cual se compara la fracción
- 25 bioactiva F1 con la fracción diclorometano obtenida de la marcha fitoquímica 2 (Ver ejemplo 2). La figura A muestra el revelado físico con luz U.V [Detección compuestos cafeoil químicos (CQ)] y la figura B el revelado químico con vainillina – ácido sulfúrico.
- 30 Por los métodos de MTT y exclusión de colorante azul tripán se pudo observar que concentraciones menores de **15,3 mg/ml**, para células **MA104**, ejercen un efecto atóxico y no se observan cambios estructurales

en su membrana plasmática, respectivamente. Dadas las concentraciones valoradas en el orden de los miligramos (concentraciones altas para un cultivo celular), estos valores confirman que un fitopreparado desarrollado como una forma farmacéutica
5 aceptable para consumo humano o animal a partir de *A. bogotensis* puede usarse de manera segura en un sistema in vivo. El fitopreparado esta acompañado de una solución glucosada con un preservante, los cuales son aceptados como excipientes de una forma farmacéutica. Este vehículo manifestó que a concentraciones proporcionales a las presentes
10 en las diluciones evaluadas del fitoterapéutico evaluado, ejerce el mismo comportamiento de baja toxicidad sobre la línea celular hepática MA104 (Figura 15).

**Ejemplo 9. Valoración preliminar de la actividad virucida ejercida
15 por un fitoterapéutico piloto desarrollado a escala de laboratorio, hecho con el extracto total de las partes aéreas de *A. bogotensis*, contra la infección *in vitro* por rotavirus.**

Conocidas las concentraciones atóxicas del fitoterapéutico piloto
20 (0,03mg/ml – 15,3mg/ml) se procedió a valorar cada una por su actividad virucida *in vitro* contra rotavirus – cepa **RRV**. Así, partículas virales previamente activadas con tripsina (10µg/ml) a una MOI: 0,1 fueron mezclados con cada concentración (1:2) de fitoterapéutico (FTP) durante dos horas a 37°C. Como controles se co-incubaron los virus con el
25 vehículo a concentración proporcional presente en el FTP y un control negativo de infección. Los resultados por inmunocitoquímica mostraron una reducción de entre el 5 al 30% donde la máxima fue obtenida usando 0,24mg/ml del FTP y la mínima con 0,06mg/ml (Figura 16). Las concentraciones probadas son elevadas en orden de buscar el efecto
30 antiviral de las sustancias presentes en la fracción bioactiva **F1**, que corresponden entre el 1 al 40% del total del extracto total.

Ejemplo 10. Evaluación preliminar de la toxicidad oral sub-aguda del fitoterapéutico piloto desarrollado a escala de laboratorio, hecho con el extracto total de las partes aéreas de *A. bogotensis*.

5 Para conocer si el producto fitoterapéutico piloto preparado con el extracto total de las partes aéreas de *A. bogotensis* puede generar signos de intoxicación a corto plazo (toxicidad sub-aguda) y adoptando los lineamientos de la Organization for Economic Cooperation and Development en su documento "OCED Guideline for the testing of
10 chemicals", guías No. 409, 401 y la 423 para la valoración de la toxicidad sub aguda a dosis repetidas y la prueba limite, se administraron dosis potencialmente tóxicas y/o letales a cerdos domésticos (Large White x Pietrain) recién nacidos privados de calostro. Las concentraciones administradas del producto fueron de 1.000 mg/Kg (**GRUPO 1**) y 5.000
15 mg/Kg (**GRUPO 2**) de peso corporal durante 14 días cada 24 horas, con un control administrando el vehículo (**GRUPO 3**). El número de animales que recibieron cada concentración del terapéutico fue de 4 respectivamente y de vehículo de 3.

A los 14 días, los animales fueron llevados a punto final siguiendo los
20 lineamientos internacionales para una adecuada eutanasia iniciando con un plano anestésico medio con aplicación intramuscular de pental (3,5ml) como sedante más xilacina como inductor (1,5ml). Una vez estos animales entraron en anestesia total se tomaron muestras de sangre por punción cardíaca para la realización de cuadro hemático, prueba de
25 coagulación (tiempo de trombina), determinación sodio, potasio, glucosa, colesterol total, nitrógeno ureico (BUN), creatinina, proteínas totales (PT), albumina y aspartato aminotransferasa (AST). Luego de tomadas las muestras de sangre, les fue aplicado a los animales eutanex (1ml) por
30 punción cardíaca con valoración exploratoria de ausencia de signos vitales para confirmar la muerte de los animales.

Durante los 14 días de ensayo y con asesoría de un médico veterinario los animales fueron sometidos a un monitoreo diario de su peso y temperatura corporal con valoración de clínica con evaluación de estímulos auditivos, visuales, propioceptivos y actividad motriz. Asimismo se hizo una búsqueda de síntomas en el animal que incluyeron cambios en la piel y el pelo, ojos y membranas mucosas, ritmo respiratorio, pérdida de la sensibilidad, temblores, convulsiones, salivación, diarrea, letargo, sueño, comportamientos extraños (apoyo de cabeza en paredes, emisión de sonidos extraños, salivación, convulsiones) u otros que sugieran una toxicidad.

La cuantificación de sodio, potasio, glucosa, colesterol total, BUN, creatinina, proteínas totales, albumina, aspartato aminotransferasa fueron procesados en el auto analizador Cobas c501 de Roche Diagnóstica, mediante técnicas colorimétricas, enzimáticas y potenciométricas.

Para los análisis bioquímicos se emplearon las muestras séricas sanguíneas recolectadas en tubo sin anticoagulante con gel separador mezclado y centrifugado dentro de los 30 minutos posteriores a su obtención. No se tomaron en cuenta para el análisis muestras con alto índice de hemólisis ya que estos afectan la medición de glicemia y potasio.

Para la cuantificación de los hemogramas se procesaron en el analizador XE-2100 de Roche Diagnóstica, que mide los parámetros mediante las siguientes técnicas con tecnología de enfoque hidrodinámico: Conteo de eritrocitos y plaquetas por impedancia, concentración de Hemoglobina por sulfato de laurel de sodio, diferenciación de poblaciones celulares por citometría de flujo fluorescente para diferenciar tipos celulares expresados en forma numérica, por dispersograma e histograma.

Para el análisis de los parámetros hematimétricos se emplearon las muestras sanguíneas recolectadas con anticoagulante EDTA (ácido etilendiamino tetra acético), conservadas una temperatura de 4 °C - 8°C

hasta su respectivo análisis en un tiempo no superior a 4 horas. No se tomaron en cuenta para el análisis muestras coaguladas.

5 Las pruebas de coagulación se realizaron en el analizador CA-1500 de Sysmex, a través del método de detección de coagulo por dispersión de luz a una longitud de onda de 660nm. Para la prueba de protrombina, se utilizó un factor tisular combinado con fosfolípidos sintéticos (tromboplastina), tampón y estabilizadores que induce la coagulación a través de la vía extrínseca. Para garantizar la precisión y exactitud de los
10 análisis se utilizaron controles plasma normal y citrol (patológico).

Para el análisis de los parámetros coagulométricos se emplearon muestras en sangre total recolectadas con anticoagulante citratado, luego centrifugados y separado el plasma conservados a una temperatura de 4°C - 8°C hasta su respectivo análisis. No se tomaron en cuenta para el
15 análisis muestras coaguladas o que no tuvieran una proporción adecuada sangre-anticoagulante.

Para las pruebas estadísticas se realizaron observaciones y recolección de los datos de cada elemento muestreado para estudios descriptivos, de visualización y resumen de datos originados a partir del experimento con
20 evaluación de la distribución teórica de las mismas mediante gráficos Cuantil-Cuantil (Q-Q plots) y la prueba Shapiro-Wilk para muestras pequeñas. En aquellas variables que arrojaron una distribución no normal se aplicaron las pruebas no paramétricas de Mann-Whitney para las variables con distribución normal la prueba T student.

25 Para la valoración de la supervivencia animal se realizó la prueba de Mantel-Cox para contrastar las funciones de supervivencia entre los animales del grupo de toxicidad quienes les fueron suministrados las dosis del fitoterapéutico piloto.

Se consideró un valor significativo aquel con una $p= 0,05$. El programa estadístico utilizado fue el SPSS versión 18.
30

Así, los análisis sanguíneos mostraron lo siguiente:

- 5 a. Elevación de la glicemia en el GRUPO CONTROL de animales a los que se les administró el vehículo (105,7 mg/dL – 146,2 mg/dL) y una disminución (0,5 mg/dL – 26 mg/dL) en dos animales del GRUPO 1.
- b. Valores de colesterol menores en el GRUPO 1 (14,2 mg/dL – 78,9 mg/dL) con respecto al GRUPO 2 (78,3 mg/dL - 111,4 mg/dL) y el GRUPO 3 o control (54 mg/dL – 107,6) mg/dL.
- 10 c. Valores bajos de BUN sérico en 2, 3 y 2 animales de los GRUPOS 1, 2 y 3 (1,7 mg/dL – 2,6 mg/dL), respectivamente y elevación en uno del GRUPO 2 (#7 / 52,8 mg/dL) atribuido aparentemente a la administración de un antibiótico. Los 3 animales restantes (2 del GRUPO 1 y 1 del GRUPO 3) tuvieron valores entre 10,2 mg/dL y 11,3 mg/dL).
- 15 d. Creatinina sérica <1 mg/dL en 10 de los animales y uno con 1,63 mg/dL (#7 / GRUPO 2)
- e. Valores de proteína total < 7,0 mg/dL y de albumina <1,9 mg/dL en todos los animales.
- 20 f. Valores de AST sérico entre 10,8 mg/dL y 54,3 mg/dL en 9 animales (GRUPOS 1, 2 y 3) y dos animales (#3 / GRUPO 1 y #7 / GRUPO 2) con elevación a 325 y 112,4 mg/dL, respectivamente.
- g. Sodio sérico entre 120 mg/dL y 136 mg/dL para todos los animales.
- h. Potasio sérico entre 3,82 mg/dL y 4,49 mg/dL en 9 animales (GRUPOS 1, 2 y 3) y dos animales (#3 / GRUPO 1 y #7 / GRUPO 2) con elevación a 13,48 y 11,59 mg/dL, respectivamente.
- 25 i. Valores de leucocitos entre 10.930 y 48.890 en 9 animales (GRUPOS 1, 2 y 3) y dos animales (#3 / GRUPO 1 y #7 / GRUPO 2) con disminución a 1.270 y 3570, respectivamente.
- 30 j. Valores de hematíes entre 2.520.000 y 5.060.000 en todos los animales.

- k. Plaquetas entre 330.000 y 76.000 en 8 animales (GRUPOS 1, 2 y 3) y tres animales (#3 / GRUPO 1, #5 y #7 / GRUPO 2) con disminución a 12.600, 109.200 y 113.000, respectivamente
- l. Hemoglobina entre 4,7 g/dL y 8,8 g/dL para todos los animales
- 5 m. Valores de hematocrito entre 17,8% y 27,3% para 10 animales, mientras que el #7 del GRUPO 2 tuvo un resultado de 35,3.
- n. Valores de neutrófilos relativos entre 41% y 90% para 9 animales y dos animales (#3 / GRUPO 1 y #7 / GRUPO 2) con disminución a 1% y 22%, respectivamente.
- 10 o. Linfocitos relativos entre y 8% y 58% para 10 animales y 74% para uno (#7 / GRUPO 2).
- p. Por ultimo valores de protrombina entre 10 y 12 para todos los animales.

El análisis estadístico solo reveló significancia entre el fitoterapéutico con la glicemia, pero no con los demás analitos bioquímicos y hematimétricos realizados de este trabajo en términos de toxicidad oral subaguda en los cerdos recién nacidos privados de calostro. Los valores anormales encontrados principalmente para el animal #7 del GRUPO 2 (5.000 mg/Kg de fitoterapeutico) y algunos para el animal #3 del GRUPO 3 (1.000 mg/Kg) llevaron a realizar un análisis microbiológico que reveló una infección por *E.coli*, que correlaciona con lo encontrado.

Como aspecto relevante se destaca que el cerdo esta mas relacionado genéticamente con el hombre en comparación con ratas o ratones y tiene igualmente características fisiológicas y metabólicas compartidas que lo hacen un buen modelo para estudios de toxicidad y antimicrobianos (Meurens 2012).

Los monitoreos de medición de peso corporal revelaron que ninguno de los animales perdió peso, sin embargo dadas las condiciones de alimentación artificial, la ganancia fue menor en comparación con las condiciones normales de campo por administración de calostro y leche materna.

Finalmente los patrones de comportamiento encontrados en todos los animales fueron en general buena apariencia, buena respuesta al tacto, marcha normal, deposiciones sólidas de color negro, micciones normales, buena respuesta visual de la pupila y pestañeo y a los estímulos auditivos. Sintomatologías como contorsiones, temores, convulsiones, lacrimación, apoyo de cabeza en paredes, emisión de sonidos extraños, salivación o piloerección que estuviese asociado a intoxicación oral subaguda no fueron observados.

En conclusión, el análisis de toxicidad oral-subaguda con prueba límite no mostró signos observables compatibles con intoxicación producida por el fitoterapéutico piloto evaluado ni por el vehículo (solución glucosada con un conservante) durante los 14 días de administración.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* con actividad antiviral obtenida por metodologías biodirigidas, estandarizada y marcada analíticamente **caracterizada porque** comprende:

Compuestos identificados	% m/m del compuesto en la fracción bioactiva F1
5-hidroxi-7,8-dimetoxiflavona	5-20
Palmitato de etilo	4-16
Ácido palmítico	4-16
6,10,14-trimetil-2-pentadecanona	2-10
22,23-dihidroestigmasterol	1-6
fitol	1-6
linoleato de etilo	1-5
Estigmasterol	1-5
Estigmast-4-en-3-ona	1-5

- 10 2. Proceso para obtener la fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* con actividad antiviral, **caracterizada porque** comprende las siguientes etapas:
- 15 a) Separar la fracción con componentes químicos de la superficie foliar del material vegetal fresco de *Achyrocline bogotensis* con un solvente orgánico de constante dieléctrica 4.5 a 5.0.
- b) Desengrasar partes vegetativas secas de *Achyrocline bogotensis* en frío con solvente orgánico del tipo hidrocarburo alifático con una constante dieléctrica entre 1.8 y 2.5;
- 20 c) Macerar el material desengrasado obtenido en la etapa b) con un solvente de alta polaridad con una constante dieléctrica entre 10 y 40;
- d) El extracto obtenido en la etapa c) se fracciona con un solvente tipo hidrocarburo alifático con una constante dieléctrica entre 1.8 y 2.5;

- e) Concentrar la fracción obtenida en la etapa d).
- f) Disolver en solvente orgánico polar aprótico de constante dieléctrica entre 4 y 5.

- 5 3. Proceso para obtener la fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* con actividad antiviral de la reivindicación 2, **caracterizada porque** el desengrase en la etapa a) se realiza con cloroformo.

- 10 4. Proceso para obtener la fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* con actividad antiviral de la reivindicación 2, **caracterizada porque** el solvente en la etapa b) y d) es hexano.

- 15 5. Proceso para obtener la fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* con actividad antiviral de la reivindicación 4, **caracterizada porque** el solvente de la etapa b) se macera en frío.

- 20 6. Proceso para obtener la fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* con actividad antiviral de la reivindicación 2, **caracterizada porque** el solvente de la etapa c) es seleccionado entre el grupo de etanol o acetona.

- 25 7. Proceso para obtener la fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* con actividad antiviral de la reivindicación 6, **caracterizada porque** el solvente de la etapa d) se macera en frío.

- 30 8. Proceso para obtener la fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* con actividad antiviral de la reivindicación 2, **caracterizada porque** la concentración del extracto en la etapa e) se realiza por secado.

9. Proceso para obtener la fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* con actividad antiviral de la reivindicación 2, **caracterizada porque** el hidrocarburo alifático de la etapa f) es hexano.

5

10. Proceso para obtener la fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* con actividad antiviral de la reivindicación 9, **caracterizada porque** la disolución del extracto de la etapa f) se realiza por fraccionamiento líquido/líquido continuo.

10

11. Fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* con actividad antiviral **caracterizada porque** es obtenida por el proceso de cualquiera de las reivindicaciones 2 a 10.

15

12. Composición farmacéutica para el control de la infección viral **caracterizada porque** comprende:

a) Una fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* con actividad antiviral que comprende:

20

Compuestos identificados	% m/m del compuesto en la fracción bioactiva F1
5-hidroxi-7,8-dimetoxiflavona	5-20
Palmitato de etilo	4-16
Ácido palmítico	4-16
6,10,14-trimetil-2-pentadecanona	2-10
22,23-dihidroestigmasterol	1-6
fitol	1-6
linoleato de etilo	1-5
Estigmasterol	1-5
Estigmast-4-en-3-ona	1-5

b) Uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

13. Composición farmacéutica para el control de la infección viral de acuerdo con la reivindicación 12, **caracterizada porque** carece de excipientes de base alcohólica.
- 5 14. Uso de la fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* para controlar la infección viral.
15. Uso de la fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* de la reivindicación 14 donde la infección viral es por rotavirus.
- 10 16. Uso de la fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* de la reivindicación 15 donde la infección viral es por Astrovirus.
- 15 17. Uso de la fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* para la fabricación de un fitoterapéutico para el tratamiento de la enfermedad diarreica aguda.
- 20 18. Método para tratar infecciones virales **caracterizado porque** se suministra al paciente en necesidad de ello una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición de la fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* con actividad antiviral.
- 25 19. Método para tratar la enfermedad diarreica aguda **caracterizado porque** se suministra al paciente en necesidad de ello una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición de la fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* con actividad antiviral.

30

EL SUBDIRECTOR DE INSPECCION Y VIGILANCIA DEL
VICEMINISTERIO DE EDUCACIÓN SUPERIOR EN
CUMPLIMIENTO DE LAS FUNCIONES ATRIBUÍDAS POR EL
DECRETO 5012 DE 2009 Y LA RESOLUCIÓN 7245 DE 2011

RL-0004221-2012

CERTIFICA:

Que el/(la) PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA (Código:1701), con domicilio en BOGOTÁ D.C., es una institución de educación superior, PRIVADA, de utilidad común, sin ánimo de lucro y su carácter académico es el de Universidad, con personería jurídica reconocida mediante RESOLUCION 73 de 12 de Diciembre de 1933 expedido(a) por el/la MINISTERIO DE GOBIERNO..

Que el término de duración de la institución es indefinido. Que la citada institución obtuvo reconocimiento institucional como Universidad mediante Decreto número 1297 del 30 de mayo de 1964, expedido por el Gobierno Nacional. Que mediante Resolución No.1320 del 12 de junio de 2003, expedida por el Ministerio de Educación Nacional le fue otorgada Acreditación Institucional. Que mediante Resolución 8038 del 06 de noviembre de 2008, expedida por el Ministerio de Educación Nacional, le fue ratificada reforma estatutaria.

Que la mencionada institución cuenta con seccional(es) en:

1702 CALI

Que al folio 353 distinguido con el registro 347 del libro de rectores y representantes legales de las instituciones de educación superior aparece inscrito(a) el/(la) PADRE JOAQUIN EMILIO SANCHEZ GARCIA, identificado(a) con cédula de ciudadanía No 4242274 expedida en Santa Rosa de Viterbo (Boyaca) como RECTOR , por un periodo comprendido entre el 1 de Octubre de 2007 y el 30 de Septiembre de 2013, que dicha inscripción se efectuó el 2 de Octubre de 2007 de conformidad con lo dispuesto en el/(la) ACTA FUNDA ., del 15 de Agosto de 2007, expedido(a) por el/(la) Gran Canciller.

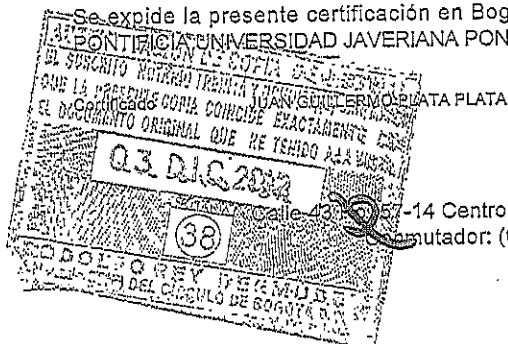
Que al folio 353 distinguido con el registro 347 del libro de rectores y representantes legales de las instituciones de educación superior aparece inscrito(a) el/(la) PADRE JOAQUIN EMILIO SANCHEZ GARCIA, identificado(a) con cédula de ciudadanía No 4242274 expedida en Santa Rosa de Viterbo (Boyaca) como REPRESENTANTE LEGAL , por un periodo comprendido entre el 1 de Octubre de 2007 y el 30 de Septiembre de 2013, que dicha inscripción se efectuó el 2 de Octubre de 2007 de conformidad con lo dispuesto en el/(la) ACTA FUNDA 1, del 15 de Agosto de 2007, expedido(a) por el/(la) Gran Canciller.

La información consignada en este certificado corresponde a la última reportada por parte de la institución.

De conformidad con lo establecido por la ley 962 de 2005, los actos de registro aquí certificados quedan en firme cinco (5) días hábiles después de la fecha de inscripción, siempre que no sean objeto del recursos en la vía gubernativa.

El presente documento electrónico tiene validez por cumplir los requisitos de que trata la Ley 527 de 1999, el Decreto Reglamentario 1747 de 2000 y las demás normas que los complementen, modifiquen o reemplacen. Para verificar la autenticidad del presente certificado o ver el documento electrónico, deberá ingresar a www.mineduccion.gov.co, menú de Trámites, opción de Consulta de Certificados e ingresar el número de radicado.

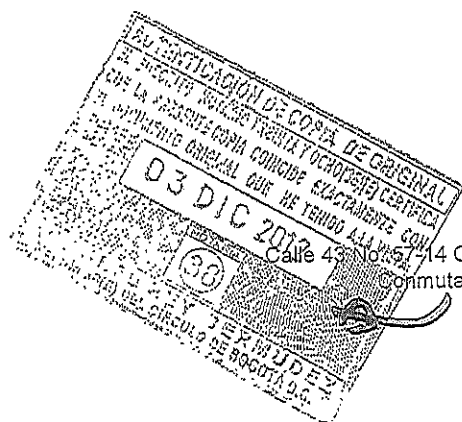
Se expide la presente certificación en Bogotá D.C. a los 8 días del mes de Noviembre de 2012, por solicitud de PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA PONTIFICIA UNIVER.



57-14 Centro Administrativo Nacional, CAN, Bogotá, D.C. Colombia
Teléfono: (057) (1) 222 2800 - Fax (057) (1) 222 4953
www.mineduccion.gov.co

Propietario T=SUBDIRECCION DE INSPECCION Y VIGILANCIA, SN=PLATA PLATA, STREET=CALLE 43 NO. 57 14 CAN, S=BOGOTA D.C., OU=MINISTERIO DE EDUCACION, SERIALNUMBER=204818, OID.1.3.6.1.4.1.23267.2.3=89999990017, OID.1.3.6.1.4.1.23267.2.2=81298420, OID.1.3.6.1.4.1.23267.2.1=52, O=MINISTERIO DE EDUCACION NACIONAL, L=BOGOTA D.C., G=JUAN, E=JPLATA@MINEDUCACION.GOV.CO, C=CO, CN=JUAN GUILLERMO PLATA PLATA

Fecha Firma 2012-11-08T16:13:27.413 Emisor CN=AC Subordinada Certicámara S.A., O=Sociedad Cameral de Certificación Digital - Certicámara S.A., C=CO



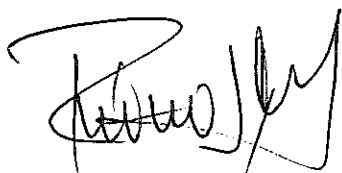
Calle 43 No. 57-14 Centro Administrativo Nacional, CAN, Bogotá, D.C. Colombia
Commutador: (057) (1) 222 2800 - Fax (057) (1) 222 4953
www.mineduacion.gov.co

CESION DE DERECHOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

Los suscritos, JUAN CARLOS ULLOA RUBIANO, ALBA NOHEMÍ TÉLLEZ ALFONSO y MAYRA ALEXANDRA TÉLLEZ CORRAL, mayores de edad, identificados como aparece al pie de sus firmas, domiciliados en Bogotá, Colombia, declaramos bajo juramento ser inventores de la invención: **“FRACCIÓN BIOACTIVA DE *Achyrocline bogotensis* (KUNTH) DC. (*Compositae*) CON ACTIVIDAD ANTIVIRAL”** y declaramos así mismo que cedemos y transferimos, sin limitación alguna, a favor de la **PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA**, constituida y existente de conformidad con las leyes de la República de Colombia y domiciliada en la Carrera 7a. No. 40-90, Bogotá, Colombia, NIT. 860013720-1, todos los derechos inherentes a dicha invención y que la citada institución queda facultada para solicitar en su nombre la patente de invención correspondiente en Colombia.

El presente documento se suscribe para ser presentado por la **PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA** en el trámite de la solicitud de patente ante la Superintendencia de Industria y Comercio.

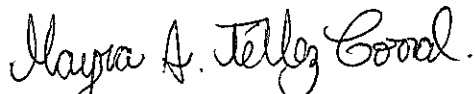
Dado y firmado hoy 24 de noviembre de 2015, en Bogotá, D.C.



JUAN CARLOS ULLOA RUBIANO
CC. 79.794.716



ALBA NOHEMÍ TÉLLEZ ALFONSO
CC. 23.556.606



MAYRA ALEXANDRA TÉLLEZ CORRAL
CC.53.107.672

CAVELIER

ABOGADOS

EDIFICIO SISKI
CARRERA 4a N° 72-35
BOGOTÁ, 8 - COLOMBIA

REPRESENTACION

REPRESENTATION

Yo **JORGE HUMBERTO PELÁEZ PIEDRAHITA**, identificado con cédula de ciudadanía número 17.158.674, actuando en calidad de rector y representante legal de la **PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA**, con domicilio en la Carrera 7 número 40 – 62 en Bogotá, Colombia domiciliado (s) en Bogotá.

Por el presente nombramos a CAVELIER ABOGADOS, sociedad colectiva constituida de conformidad con las leyes de la República de Colombia, mediante Escritura Pública No. 6233 del 10 de septiembre de 1974, otorgada en la Notaría Sexta del Círculo de Bogotá, domiciliada en Bogotá D.C., con matrícula mercantil No. 00820237 y NIT 860041367-3, domiciliada en la Carrera 4a N° 72-35, Bogotá, Colombia, como nuestra representante para la presentación y trámite de la solicitud de patente **FRACCIÓN BIOACTIVA DE Achyrocline bogotensis (KUNTH) DC. (Compositae) CON ACTIVIDAD ANTIVIRAL**, con facultad para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales.

CAVELIER ABOGADOS también podrá representarnos, con las mismas facultades arriba indicadas, ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no jurisdicción, autoridades administrativas o jurisdiccionales, tribunales de arbitramento, en asuntos de naturaleza civil, comercial, penal, constitucional, competencia, competencia desleal, administrativa, contencioso administrativa, protección del consumidor, variedades vegetales, nombres de dominio, oposiciones u observaciones, cancelación administrativa y judicial, nulidad, medidas cautelares, concesión de licencias, acciones de tutela, la protección de secretos industriales, derecho regulatorio y en general para que nos represente en cualesquiera acciones y procesos que promovamos o se nos promuevan.

La representante podrá, en nuestro nombre, designar apoderados para actuar ante autoridades administrativas y judiciales, por vía extrajudicial y también procesalmente en nuestro nombre, como demandantes, como demandados, como litisconsortes, como agentes oficiosos, como terceros, por llamamiento en garantía o como intervinientes ad excludendum. Dentro de esta autorización, la representante podrá facultar a los apoderados que ella designe para transigir, conciliar, admitir los hechos del proceso, desistir, cancelar, recibir, renunciar y sustituir el poder que se le otorgue. Así mismo, la representante tendrá la facultad para revocar el poder así otorgado en el momento que considere pertinente. La representante en todo caso podrá ratificar los actos de agentes oficiosos.

Dado y firmado hoy

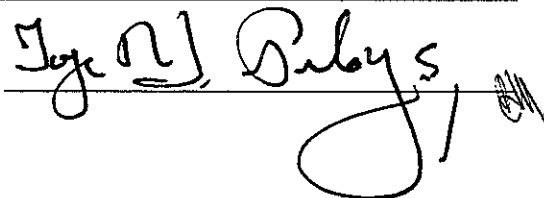
10 de diciembre de 2015

En

Bogotá, Colombia

Por **JORGE HUMBERTO PELÁEZ PIEDRAHITA**

Firma



CAVELIER

ABOGADOS

Señor Director

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

Superintendencia de Industria y Comercio

E.

S.

D.

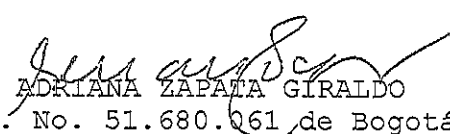
Asunto :Solicitud de patente para **FRACCIÓN BIOACTIVA DE**
***Achyrocline bogotensis* (KUNTH) DC. (*Compositae*) CON**
ACTIVIDAD ANTIVIRAL

Solicitante :PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA

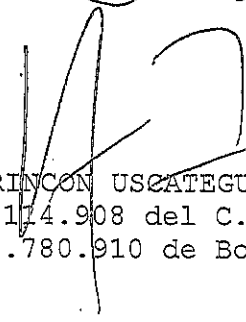
Yo, ADRIANA ZAPATA GIRALDO mayor de edad, vecina de esta ciudad, identificada con cédula de ciudadanía No. 51.680.061 de Bogotá, en mi calidad de representante legal de la sociedad CAVELIER ABOGADOS domiciliada en la Carrera 4 No. 72-35, en desarrollo de la representación que le fue otorgada por la **PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA**, confiero poder a los doctores ANDRES RINCON USCATEGUI, identificado con cédula de ciudadanía No. 79.780.910 de Bogotá, portador de la tarjeta profesional No. 114.908, LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, identificada con cédula de ciudadanía No. 35.456.344 de Usaquén, portadora de la Tarjeta Profesional No. 23.555, JORGE CHAVARRO ARISTIZABAL, identificado con la cédula de ciudadanía No. 16.209.380 de Cartago (Valle), portador de la Tarjeta Profesional No. 40.119 y EDNA DARMELY SARMIENTO CHARRY identificada con la cédula de ciudadanía No. 52.006.265 de Bogotá, portadora de la Tarjeta Profesional No. 65.794, para presentar la solicitud de registro de la patente indicada en la referencia.

Los apoderados quedan facultados para interponer recursos, transigir, conciliar, desistir, cancelar, recibir, renunciar, sustituir y revocar las sustituciones, y ratificar los actos de agentes oficiosos.

Señor Director,


ADRIANA ZAPATA GIRALDO
C.C. No. 51.680.061 de Bogotá

Acepto:


ANDRES RINCON USCATEGUI
T.P.A. No. 114.908 del C.S.J.
C.C. No. 79.780.910 de Bogotá

MMS\SDC\COLO-19032-801-007-8

"EXCELENCIA LEGAL EN UN MUNDO SIN FRONTERAS"

BOGOTÁ - Edificio Siskind - Carrera 4 No. 72 - 35 - Tel: (57-1) 347 3611 - Fax (57-1) 211 8650 - Fax in U.S.A: (1-305) 676 7743 - COLOMBIA
MEDELLÍN - San Fernando Plaza - Carrera 43 A No. 1 - 50 - Torre Protección Oficina 852 - Tel: (57-4) 520 4760 / (57-4) 326 0789 / (57) 317 365 8863 / (57) 318 532 2365- COLOMBIA

www.cavelier.com
cavelier@cavelier.com

RESUMEN

5

La presente invención divulga una fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis*, que contiene una mezcla compleja de compuestos, donde se destacan el ácido palmítico, palmitato de etilo, 6,10,14-trimetil-2-pentadecanona, 5-hidroxi-7,8-dimetoxiflavona, fitol y estigmasterol, 22, 23-
10 dihidroestigmasterol, entre otros. Esta fracción puede ser empleada en la fabricación de fitoterapéuticos útiles para el tratamiento de infecciones de origen viral y especialmente de la enfermedad diarreica aguda (EDA). También se divulga la composición farmacéutica que comprende esta fracción bioactiva junto a uno o más excipientes, el método para tratar
15 pacientes con esta fracción bioactiva y así como el proceso mediante el cual se obtiene dicha fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis*.